

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie,
-Biochemie, -Pharmakologie und -Toxikologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Der Einfluß elektrischer Wechselfelder (100kV/m, 50 Hz)
auf die Entwicklung des körpereigenen
Abwehrsystems der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktor der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Siegfried Kress
Tierarzt aus Calw

Berlin 1985
Journal-Nr. 1251

Aus dem Verlage für Buchdruck-Druckerei,
Buchdruck, Buchdruckerei und -Druckerei
des Kaiserlichen Hofes, Berlin
des Verlags Verlags, Berlin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie,
-Biochemie, -Pharmakologie und -Toxikologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Der Einfluß elektrischer Wechselfelder (100kV/m, 50 Hz)
auf die Entwicklung des körpereigenen
Abwehrsystems der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktor der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Siegfried Kress
Tierarzt aus Calw

Berlin 1985
Journal-Nr. 1251

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Fachbereichssprecher : Prof. Dr. F. Hörchner

Erster Gutachter : Prof. Dr. G. Wittke

Zweiter Gutachter : Prof. Dr. E. Hellmann

Tag der Promotion : 26. Juli 1985

INHALTSVERZEICHNIS

	SEITE
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Elektrische Felder in der Umgebung von Mensch und Tier	3
2.2. Untersuchungen über den Einfluß elektrischer Wechselfelder	6
2.2.1. Mikroorganismen, Pflanzen, Insekten	7
2.2.2. Laboratoriumstiere	8
2.2.3. Mensch	12
2.3. Parameter des zellulären und humoralen Abwehrsystems der Ratte	14
2.3.1. Gesamtzahl der Leukozyten	14
2.3.2. Differentialblutbild	15
2.3.3. Immunglobuline	18
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	22
3.1. Material und Methoden	22
3.1.1. Versuchstiere	23
3.1.2. Versuchsanordnung	23
3.1.3. Untersuchungstechnik	26
3.1.3.1. Blutentnahme	26
3.1.3.2. Leukozytenzählung und Differenzierung	27
3.1.3.3. Immunglobulinbestimmung	27
3.1.3.3.1. Agarosegelelektrophorese	28
3.1.3.3.2. Gesamteiweißbestimmung	34
3.1.3.4. Weitere Untersuchungen (Körpergewicht, Organengewichte, Knochenmark)	35
3.2. Kritik der Methode	35

	SEITE
4. ERGEBNISSE	40
4.1. Auswertungsmodus	40
4.1.1. Gesamtzahl der Leukozyten	40
4.1.2. Differentialblutbild	44
4.1.3. Varianzanalyse des weißen Blutbildes	49
4.1.4. Gesamteiweiß, Immunglobuline und andere Proteinfractionen	50
4.1.5. Weitere Untersuchungen	63
5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	67
6. ZUSAMMENFASSUNG	80
7. SUMMARY	82
8. LITERATURVERZEICHNIS	84

1. EINLEITUNG

Seit einer Reihe von Jahren haben sich Wissenschaft und Energiewirtschaft in stärkerem Maße mit dem Einfluß elektromagnetischer Felder auf den menschlichen und tierischen Körper befaßt.

Der Grund lag zum einen in der Tendenz, zu höheren Übertragungsspannungen und damit größeren Feldstärken im Bereich der Anlagen überzugehen und zum anderen in der Tatsache, daß über die Wirkungen solcher Felder wegen widersprüchlicher Befunde große Unsicherheit herrschte. Um Klarheit zu gewinnen, die womöglich zu einer Korrektur von Schutznormen führen müßte, waren Beobachtungen an menschlichen Probanden unter definierten Bedingungen erforderlich, wie sie von KÜHNE (6) in den Jahren 1975 - 1978 angestellt wurden. Ihnen mußten tierexperimentelle Pilotuntersuchungen vorausgehen, die im hiesigen Institut von BRINKMANN, BAYER und WITKE (1) in Zusammenarbeit mit der Siemens AG und der Technischen Hochschule Hannover vorgenommen wurden.

Diese bestanden zunächst in einer Langzeitexposition von Ratten über ein Jahr in einem elektrischen Wechselfeld von 100 kV/m (bezogen auf die ungestörte Feldstärke) und der technischen Frequenz von 50 Hz. Außer einer Veränderung der Spontanaktivität fiel bei einer hämatologischen Untersuchung nach zehn Monaten eine deutlich verminderte Anzahl von Leukozyten bei den Tieren im elektrischen Feld im Vergleich zu den Tieren im Nullfeld auf. Da am tierischen Körper anliegende elektrische Wechselfelder nur geringe Eindringtiefen haben, und die Ausgleichsströme weit unter der Größenordnung liegen, die physiologische Wirkungen erwarten ließe, wurden beide Befunde zunächst als "Außenwirkung" gedeutet. Speziell für die verminderte Leukozytenzahl wurde vermutet, daß die Feldtiere sich in einem keimärmeren Milieu als die Kontrolltiere befanden, zumal wir aus anderen und eigenen Untersuchungen wußten, daß das

Keimwachstum in Feldern der von uns gewählten Stärke gehemmt werden kann. So entstand die Vorstellung, daß die beobachtete "Leukopenie", wenn sie nicht ein Zufallsbefund war, dann vielleicht der Ausdruck einer auf die Dauer geringeren Provokation und Mobilisation der körpereigenen Abwehrkräfte im immunologischen Sinne war.

Eine weitere Möglichkeit bestand darin, daß die Tiere das Feld auf die Dauer als eine Belastung empfanden, auf die sie mit einer unspezifischen Immundepression reagierten. Zur Klärung dieser Fragen sollten in dieser Arbeit eine Verlaufsuntersuchung des weißen Blutbildes unter Feldbelastung, die Entwicklung der Immunglobuline und die Reaktion auf einen Antigenreiz geprüft werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Elektrische Felder in der Umgebung von Mensch und Tier

Seit der ersten Beobachtung eines Blitzes besteht ein Interesse an luftelektrischen Vorgängen. Zunächst eher mystisch gedeutet, ist mit der Entwicklung der Naturwissenschaften mehr darüber bekannt geworden. So wissen wir heute (2), daß in der Erdatmosphäre ein elektrostatisches Feld existiert, dessen durchschnittliche Feldstärke mit 130 V/m angenommen wird. Die negativ geladene Erdoberfläche und eine positive obere Atmosphäre werden durch die Weltgewittertätigkeit geschaffen. Blitze transportieren negative Ladungen zur Erde. Die verbleibenden positiven Ladungen strömen nach oben und können sich in der dünnen Luft dann leicht horizontal ausbreiten und so die positive Ausgleichsschicht bilden. Aufgrund der zu hohen Unterschiede in der spezifischen Leitfähigkeit von Luft und organischem Gewebe dringt das elektrische Gleichfeld nicht in Lebewesen ein. Signifikante biologische Befunde aus Laborversuchen sind ausschließlich auf die Restwelligkeit der zur Erzeugung des Gleichfeldes eingesetzten Hochspannungsgeneratoren zurückzuführen. Einen nachweisbaren Einfluß besitzt dagegen die auch als "Atmosferics" bekannte atmosphärische Impulsstrahlung: starke elektromagnetische Impulse im Längstwellenbereich von 1/10.000 s Dauer. Bei jeder Blitzentladung entsteht ein breites Spektrum elektromagnetischer Wellen mit zwei vorwiegenden Anteilen im Extremlangwellenbereich (3-30 KHz, $E_{\max}$ 10 KHz) und im Ultralangwellenbereich (0,3-3 KHz, $E_{\max}$ 10 Hz). Die 10 Hz-Frequenz ist auch als Schönwetterfrequenz bekannt. Bei im Labor erzeugter niedriger Atmosfericstätigkeit, wie sie im Winter üblich ist, begeben sich Goldhamster in Winterschlaf (3). Beim Wechsel zu hoher Aktivität, wie im Sommer üblich, ist ein spontanes Erwachen, oft sogar ein Bewegungssturm

die Folge. Für diese Wirkung als Zeitgeber für Steuerung bzw. Anregung von Stoffwechselvorgängen sprechen auch Beobachtungen an Termiten hinsichtlich der Gesamtaktivität und des typischen Galeriebaues (4).

Bei Untersuchungen am Menschen sprechen vorwiegend psychisch labile und auch wetterfühlige Probanden reproduzierbar auf Atmosferics an (Verbesserung der geprüften Leistungen) (5). Insgesamt ist die Wirkung von Atmosferics stark abhängig von der Frequenz, wobei natürlicherweise vorkommende aperiodische Impulsfolgen wirksamer sind als periodische Signale.

Im Unterschied zu den Atmosferics besitzen die energietechnischen Felder eine konstante Frequenz, die je nach System 50 Hz (West- und Osteuropa) bzw. 60 Hz (USA, Kanada) beträgt. Eine Variierungsmöglichkeit gibt es daher nur bei der Feldstärke. Unter Hochspannungsleitungen sind dabei - je nach Spannungsebene - verschiedene Maximalwerte zu erwarten. Eine Übersicht über maximale Bodenfeldstärken in Spannfeldmitte zwischen zwei Masten und hier je nach Leiterseilanordnung in einer Entfernung bis zu 30 m senkrecht zur Trasse ist der Arbeit von KÜHNE entnommen (6).

110 kV :	2,5 kV/m
220 kV :	6,4 kV/m
380 kV :	8,1 kV/m
765 kV :	14,0 kV/m
1300 kV :	17,1 kV/m

Tab.1: maximale Bodenfeldstärken bei verschiedenen Spannungsebenen (KÜHNE 1979)

Maximalwerte stellen diese Angaben deshalb dar, weil sie so nur bei homogenen Feldern auftreten. Eine Abschwächung wird zum Beispiel durch hochwachsende Vegetation oder in der Nähe von Gebäuden hervorgerufen. Gerät ein Mensch oder ein Tier in das Feld, so wird es verzerrt. Daraus ergeben sich

örtliche Veränderungen der Feldstärke, deren Ausmaß von BRINKMANN (7) und KÜHNE (6) in Modellrechnungen abgeschätzt worden ist. Den Bezugspunkt bildet dabei immer die ungestörte Bodenfeldstärke E_0 .

Die genannten Autoren gehen in ihren Betrachtungen davon aus, daß der menschliche Körper im elektrischen Feld als leitend anzusehen ist. Es fließen dabei Ströme von 10-20 μA , kV/m. Der Durchgangswiderstand des menschlichen Körpers wird mit 1000 Ω angegeben. Daraus folgt, daß sich bei einem Menschen von 1,80 m Größe unter Einwirkung eines Feldes von 20 kV/m ein rechnerischer Spannungsabfall von nur 280 mV ergibt.

Unter Berücksichtigung der Leitfähigkeit hat BRINKMANN (7) eine näherungsweise Berechnung der Verteilung der Feldstärke anhand eines rotationssymmetrischen Ellipsoids durchgeführt. Für eine Körpergröße von 1,80 m und einem Brustdurchmesser von 40 cm ergibt sich daraus ein Überhöhungsfaktor für den Kopf des stehenden Menschen von etwa 15. Das bedeutet, daß eine maximale Feldstärke zu erwarten ist, die ca. 15 mal so hoch ist, wie die ursprüngliche Feldstärke E_0 im homogenen Fall. Für Versuchstiere wie die Ratte ergibt sich aus ähnlichen Berechnungen bei Annahme einer halbkugelähnlichen Konfiguration ein Überhöhungsfaktor von 3 für das sitzende Tier.

Bezüglich des im Körper auftretenden elektrischen Feldes konnte SILNY (8) mit Hilfe eines zweischichtigen Modells (niederohmiger Kern der Körperorgane, hochohmige Randschicht des Haut- bzw. Unterhautfettgewebes) anhand einer Meßreihe einen sogenannten Feldstärkequotienten E_i/E_0 (E_i = Feldstärke im Körperinneren, E_0 = Feldstärke des äußeren homogenen Feldes) ermitteln.

Es ist bei den heutzutage auftretenden Feldstärken also mit Feldern im Körperinneren von 10 - 100 uV/cm zu rechnen. Die Reizschwelle von Nervenfasern liegt nach Literaturangaben (9) zwischen 0,1 und 1 V/cm.

SILNY berechnete ebenfalls mit Hilfe seines Modells die Wärmeentwicklung in der Haut und im Inneren des Körpers. Für eine Einwirkzeit von 1 h, $E_0 = 20 \text{ KV/m}$, $\chi = 30 \times 10^{-3} \text{ S/m}$ und $a/b = 5$ (Verhältnis der Durchmesser eines rotationssymmetrischen Ellipsoids als Approximation der Körpergestalt des stehenden Menschen oder liegenden Tieres) ergab das eine maximale Temperaturerhöhung von $7,12 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$.

2.2. Untersuchungen über den Einfluß elektrischer Wechselfelder

In der verfügbaren Literatur sind die Angaben über Wirkungen elektrischer Wechselfelder auf Tiere und Menschen nach wie vor kontrovers. So konnten z.B. den Menschen betreffende Befunde sowjetischer Untersucher in Arbeiten westlicher Experimentatoren nicht bestätigt werden. Letztere bezogen sich allerdings auf relativ kurze Expositionszeiten, so daß vermehrt die Forderung nach Untersuchungen auf Langzeiteffekte erhoben wurde (10). Unter festen Bedingungen registrierte Befunde gelten prinzipiell nur für diejenige Tier- oder Pflanzenart, an denen sie ermittelt worden sind. Um eine auszugsweise Übersicht über bisherige Untersuchungen in elektrischen Feldern zu erleichtern, ist im folgenden unter dem Aspekt der Wirksamkeit eine Gruppierung vorgenommen worden, welche jeweils einige Ergebnisse an Pflanzen und Insekten, an Laboratoriumstieren und an Menschen zusammenfasst.

2.2.1.1. Mikroorganismen, Pflanzen, Insekten

Auf diesem Gebiet ist es nahezu allen damit beschäftigten Wissenschaftlern gelungen, Einflüsse elektrischer Wechselfelder nachzuweisen. So konnten ROBERTSON et al. (12) bei Pflanzenwurzeln von *Pisum sativum* L. nach Anlegen eines 60 Hz-Feldes spannungsabhängige Wachstumsstörungen beobachten. Eine Feldstärke von 140 V/m ließ dabei noch keine Veränderungen erkennen. Bei 430 V/m gab es jedoch schon größere Störungen in Form einer Hemmung des Wuchses und einer Einschränkung des Mitoseindex. Ab 490 V/m kam das Wachstum der Pflanzenwurzeln dann nahezu zum Stillstand. Nach Entfernung des Feldes erholten sich die Pflanzen wieder.

Der Arbeitsgruppe von ZIMMERMANN und SCHEURICH (13) aus dem Kernforschungszentrum in Jülich gelang eine Zellfusion von Mesophyllzellprotoplasten aus *Avena sativa* durch einen hohen Feldimpuls (ca. 750 V/m) von kurzer Dauer (20-50 μ s).

ASCOLI et al. (14) konnten bei *Euglena gracilis*-Kulturen eine deutliche Orientierung zu den Feldlinien und eine Steigerung der Fortbewegungsgeschwindigkeit beobachten, bei der allerdings auch eine Erhöhung der Temperatur im umgebenden Medium mitgewirkt haben könnte. Eine feldlinienparallele Orientierung erfolgte ab 50 Hz und 60 V/m, wobei neben Feldstärke und Frequenz die elektrische Leitfähigkeit des Suspensionsmediums eine gewichtige Rolle spielte. FERRIS und GRIFFIN (15), die ebenfalls mit *Euglena-gracilis* Kulturen arbeiteten, konnten diese Befunde bestätigen.

Bei *Polyphysarum polycephalum* konnten GOODMAN et al. (16) einen verlängerten Mitoserhythmus und eine reduzierte Respirationsrate beobachten. Es wurde mit Feldstärken von 0,035 bis 0,7 V/m und einer Frequenz von 75 Hz gearbeitet. Die Expositionszeit betrug nahezu 700 Tage.

In einer Untersuchung an Bienenvölkern, die direkt unter einer 765 kV, 60 Hz-Freileitung, bei 7 kV/m in der unmittelbaren Umgebung, gehalten wurden, konnten GREENBERG et al. (17) eine Reihe von Effekten nachweisen: Gesteigerte Aktivität mit vorübergehendem Anstieg der Temperatur im Bienenstock; schlechte Gewichtszunahmen; Verlust der Königin und abnorme Produktion von Königinzellen; Abnahme der Anzahl verschlossener Brutzellen; schlechtes Überleben im Winter. Durch Variieren der umgebenden Feldstärke nach Standortwechsel konnte eine Spannungsabhängigkeit der Effekte festgestellt werden.

2.2.1.2. Laboratoriumstiere

Es liegt bereits eine große Anzahl von Untersuchungen an Laboratoriumstieren vor. Sie beziehen sich zum einen auf allgemeine biologische Parameter wie Blutbilder und Gewichtszunahmen, zum anderen auch auf spezielle Funktionen, besonders im neurologischen Bereich.

Am hiesigen Institut wurde eine Arbeit von BRINKMANN (7) durchgeführt. Er setzte Ratten ein Jahr lang einem homogenen elektrischen Wechselfeld von 100 kV/m und 50 Hz aus, und fand eine um 23 % geringere Gesamtaktivität der exponierten Tiere gegenüber Kontrolltieren, sowie eine um 30 % geringere Gesamtzahl der Leukozyten. Ein Unterschied der Milzgewichte lag an der Grenze der statistischen Signifikanz. Latenzzeit der Schreckreaktion auf akustische Reize, mittlere Herzschlagfrequenz, Erythrozytenkonzentration, Hämoglobinwerte und Differentialblutbild zeigten keine Abweichungen gegenüber Kontrolltieren. In Wahlversuchen, bei denen den Tieren die Möglichkeit gegeben wurde, zwischen Feld- und Nichtfeldkäfig zu wählen, wurde eindeutig der Nichtfeldkäfig bevorzugt. Die geringste Feldstärke, mit der sich die Tiere von ihrem Nestplatz vertreiben ließen, lag zwischen 10 und 20 V/m.

ROSENBERG et al. (18) fanden bei Kurzzeitexposition (100 kV/m, 60 Hz) von *Peromyscus leucopus* (weißfüßige Wildmaus) einen unmittelbaren, vorübergehenden Anstieg der Aktivität, der CO₂-Produktion und des O₂-Verbrauchs. Diese Werte kehrten im weiteren Verlauf sehr schnell zur Norm zurück.

MATHEWSON et al. (19) konnten für 0,2 - 100 V/m und 45 Hz bei männlichen Sprague-Dawley Ratten keine Unterschiede in Bezug auf Wachstum, Futter- und Wasserverbrauch, Gesamteiweiß, Globuline, Glucose, Gesamtfett, Cholesterin, Triglyceride und Blutbild feststellen.

MORRIS und RAGAN (20) konnten in immunologischen Versuchen mit Swiss-Webster Mäusen nach 30- bzw. 60-tägiger Exposition (100 kV/m, 60 Hz) keine Anzeichen für Veränderungen von IgG- oder IgM- Konzentrationen finden. Die Gesamtzahl der Leukozyten von Feldtieren war in einem Versuch statistisch signifikant niedriger als die der Kontrolltiere, in einem weiteren Versuch dann nicht mehr. Andere Parameter, wie Serumkomplement, Anzahl der Lymphozyten im strömenden Blut, Antigen-Antikörperreaktion, zeigten keine signifikanten Unterschiede.

In einer umfassenden Studie an Swiss-Webster-Mäusen und Sprague-Dawley - Ratten, die für 15, 30, 60 und 120 Tage elektrischen Wechselfeldern (100 kV/m, 60 Hz) ausgesetzt waren, fanden RAGAN et al. (21) keine Unterschiede bei einer Vielzahl von hämatologischen und serologischen Untersuchungen.

FAM (22) berichtet von signifikanten Unterschieden im Trinkwasserverbrauch, Gewichtsunterschieden bei weiblichen Tieren und höheren Albuminanteilen der männlichen Versuchstiere. Er arbeitete mit Mäusen bei 240 kV/m, 60 Hz und einer Expositionszeit von ca. 190 Tagen.

Die Grazer Arbeitsgruppe von FISCHER et al. (23) beobachtete an Mäusen nach achtzehnmonatiger Exposition bei 15 kV/m und 50 Hz eine tendenziell gedämpfte Immunantwort der feld-exponierten Tiere gegenüber Kontrollen unter Laborbedingungen. Über den gleichen Zeitraum als zusätzliche Kontrollen im Faradaykäfig gehaltene Mäuse zeigten hingegen eine deutlich erniedrigte Immunreaktion.

Ebenfalls in Graz (24) wurde ein erheblicher Noradrenalinanstieg im Gehirn von Ratten bereits nach fünfzehnminütiger Exposition (5,3 kV/m, 50 Hz) festgestellt. Nach weiteren zehn Tagen des Versuchs fielen diese Werte deutlich unter die der Kontrollen, was als Hinweis für einen zentralen Angriffspunkt gedeutet wurde.

Im Bereich der neuralen Beeinflussung fanden HANSSON et al. (25) nur elektronenmikroskopisch zu beobachtende Veränderungen an Purkinje-Zellen und Nissl'schen Körperchen im Kleinhirn von Albinokaninchen (14 kV/m, 50 Hz, Expositionszeit: Foetalperiode bis 7,5 Wochen nach der Geburt), sowie eine erhebliche Wachstumsstörung. Die Veränderungen zeigten jedoch von morphologischer Seite aus weder Degenerationserscheinungen noch Anzeichen für einen Funktionsverlust. Sie ließen vielmehr auf signifikant veränderte Stoffwechselvorgänge dieser Neurone schließen, wobei das Ausmaß bei jüngeren Tieren weitaus stärker als bei älteren war. Eine Erklärung hierzu wird in den in vitro-Untersuchungen am Nervengewebe von ADEY et al. (26) gesucht, die Störungen im Ca^{++} -Transport an Membranen beobachten konnten.

JAFFE et al. (27) sahen nach 30-tägiger Exposition von erwachsenen Ratten bei 100 kV/m und 60 Hz keine Anzeichen einer Beeinträchtigung neuromuskulärer Funktionen.

WILSON et al. (28) konnten nach ebenfalls 30-tägiger Exposition (65 kV/m, 60 Hz) Veränderungen im endokrinen Bereich bei der Ratte festhalten. Der normale nächtliche Anstieg von Melatonin in der Zirbeldrüse war gehemmt, während der 5-Methoxytryptophanol-Gehalt erhöht war. Ebenfalls erniedrigt war die Serotonin-n-acetyltransferase-Aktivität in der Zirbeldrüse.

Eine Verhaltens- und Aktivitätsstudie führten HJERESSEN et al. (29) durch. Bei Kurzzeittests von 4 Stunden kam es in Feldern von 90 kV/m und mehr zu einer Vermeidung der Feldregion, bei einem 24 h-Test zu einer Meidung von 75 kV/m und mehr. Bei einem weiteren Test wurde bei 25 und 50 kV/m die exponierte Region während der 12 h-Hellphase bevorzugt, exponierte Tiere zeigten eine höhere Aktivität.

BOOTZ (30) führte am hiesigen Institut Untersuchungen über Legeleistung, Eiqualität und Verhalten von Hühnern und deren Nachkommen durch. Er konnte bei den Legehennen nach 43 Wochen im Feld (5 kV/m, 50 Hz) das Legen kleinerer Eier so wie ein aggressiveres Verhalten der männlichen feldexponierten Tiere und eine höhere Überlebensquote der Nachkommen von Feldtieren beobachten. Sämtliche anderen Parameter wie Schlupfrate, Gewichtszunahmen, Eintritt der Legereife, Befruchtungsrate, Legeleistung, Eiqualität, Blutgerinnung und die pathologisch-anatomische Untersuchung zeigten keine Unterschiede.

DE LORGE und GRISSETT (31) konnten bei Rhesus-Affen keinerlei Veränderungen feststellen (1 - 29 V/m, 7 - 75 Hz). Untersucht wurden Aktivität, Reaktionszeit, sowie die Zusammensetzung des Blutes. COOPER, GRAVES et al. (32) zeigten, daß Pinguine in der Lage sind, 60 Hz-Felder von 10,5 kV/m bis 21 kV/m in Kopfnähe zu erkennen.

Russische Autoren wie GABOVICH (33), KOZIARIN (34) und TOMASHEVSKAIA (35) berichten von feldstärkeabhängigen Veränderungen im Nervensystem, in der Schilddrüsenfunktion, sowie im Austausch von Spurenelementen. Jüngere Ratten waren dabei empfindlicher als ältere. Die stärksten Reaktionen wurden bei 15 kV/m gemessen. Zur Wiederherstellung normaler Funktionen war eine Erholungsphase von mindestens 30 Tagen nötig.

KUKSINSKI'I (36) fand nach achttägiger Exposition einen Anstieg der koagulativen und fibrinolytischen Aktivität des Blutes von Ratten und eine gleichzeitige Hemmung thromboplastischer Faktoren des Herzens und der Gefäße. Nach 20 Tagen kam es zu einer Inaktivierung von Gewebs- und Plasma-gerinnungsfaktoren.

2.2.1.3. Mensch

Die auf der CIGRE-Konferenz 1972 in Paris vorgelegten Ergebnisse von KORUBKOVA et al. (37) berichten von schwerwiegenden Schäden bei Arbeitern, die elektrischen Wechselfeldern von 10 - 15 kV/m ausgesetzt waren. Im einzelnen soll es dabei zu Symptomen wie Unwohlsein, Nachlassen der Potenz, Veränderungen im ZNS, im Herz-Kreislaufsystem und in der Blutmorphologie so wie zu geringerer Erregbarkeit, funktioneller Unruhe, vermindertem Reaktionsvermögen, Irritation der Thermoregulation, niederem Blutdruck, verlangsamter Pulsfrequenz, Retikulosi und qualitativen Veränderungen der neutrophilen Granulozyten gekommen sein.

In einer epidemiologischen Untersuchung von KNAVE et al. (38) an 53 Arbeitern, die bereits länger als 5 Jahre in einer 400-kV-Anlage arbeiteten, konnten keine Unterschiede festgestellt werden gegenüber 53 vergleichbaren Arbeitern hinsichtlich chronischer Gesundheitsschäden des Nerven-, Herz- und Kreislaufsystems sowie der Zusammensetzung des Blutes.

KÜHNE (6) führte eine umfassende Studie an 50 Probanden durch. Er konnte dabei die Empfindungsschwelle für elektrische Wechselfelder zwischen 6 und 16 kV/m, 50 Hz im Sitzen ermitteln. Beim Ausstrecken der Arme über den Kopf wurde das Feld bereits bei Feldstärken unter 5 kV/m verspürt. Durch geeignete Kleidung ließ sich die Empfindungsschwelle um bis zu 5 kV/m erhöhen. Das Feld wurde dabei durch Vibrieren der Haare und Kribbeln der Haut wahrgenommen. Über 40 Blut- und Harnparameter zeigten keine feldbedingten Veränderungen. Lediglich bei der Blutsenkung einer relativ kleinen Stichprobe von 12 Probanden wurde eine 12,5 %ige Erhöhung des 1 h-Wertes bei 10 kV/m beobachtet. Bei 20 kV/m zeigte sich eine 2,4 %ige Zunahme der Leukozytenzahl. Beide Veränderungen lagen sowohl an der Signifikanzgrenze als auch an der Grenze der Meßgenauigkeit.

Russische Autoren wie DUMANSKI (39) und KLEINER (40) fanden dagegen feldstärkeabhängige Effekte auf einige Funktionsparameter des Körpers darunter auch auf immunologische Feldgrößen. Diese widersprüchlichen Ergebnisse haben lange Zeit plausible Interpretationen vorliegender Erfahrungen erschwert. Mögliche Ursachen mangelnder Übereinstimmung bisher beobachteter Befunde bzw. Tendenzen fasst PFÜTZNER (11) aufgrund seiner Analyse von 250 Arbeiten in einem Kriterienkatalog zusammen, der im wesentlichen folgende Gesichtspunkte enthält:

1) Versuchsbedingungen und Modelle:

Unterschiedliche physikalische Eigenschaften der angewandten Felder sowie Verschiedenheit der gewählten biologischen Parameter und der beobachteten biologischen Systeme vom Einzeller bis zum Menschen lassen direkte Vergleiche grundsätzlich nicht zu.

2) Feldstärke:

Oberhalb einer Wirkungsschwelle erzeugt weitere Erhöhung der Feldstärke nicht unbedingt eine Verstärkung der Effekte. Mitunter verschwinden sie sogar oder nehmen ab.

3) Art des Feldes:

Wechselfelder zeigen Effekte bei niedrigerer Feldstärke als Gleichfelder.

4) Frequenz:

Zwischen 3 und 10 Hz können Intensitäten von 1 V/m effektiv sein, bei 50 Hz zeigen sich erst ab 500 V/m Wirkungen.

5) Expositionszeit:

Effekte treten teilweise schon nach sehr kurzer Zeit auf, was jedoch stark vom biologischen System abhängig ist.

Alle diese Gesichtspunkte ließen eine Forderung nach einer Standardisierung der Versuchsbedingungen nur zu verständlich erscheinen.

2.3. Parameter des zellulären und humoralen Abwehrsystems der Ratte

Im folgenden werden die von uns untersuchten Parameter, nämlich das weiße Blutbild und die Immunglobuline bei der Ratte, anhand von Literaturangaben vorgestellt. Es wird dabei insbesondere auf das Problem von "Normbereichen" eingegangen. Da es sehr schwierig ist, solche für die genannten Parameter anzugeben, wird verdeutlicht, wie wichtig es ist, möglichst ähnliche Tiere in Versuchs- und Kontrollgruppe zu haben, um realistische Vergleiche anstellen zu können.

2.3.1. Gesamtzahl der Leukozyten

Aus der Literatur (41, 42, 43, 44, 45, 46) geht hervor, daß Angaben zur Gesamtzahl der Leukozyten von Ratten stark variieren. Es ist daher eigentlich nicht möglich, Normwerte anzugeben. Die jeweils ermittelten Werte sind in großem Maße abhängig vom Alter und vom hygienischen Status der Tiere. Des weiteren spielen Haltungsbedingungen, Rasse und Technik der Blutentnahme eine wichtige Rolle. Von den individuellen und meßtechnisch bedingten Unterschieden abgesehen, besteht eine deutlich altersabhängige Entwicklung, die durch stetige Zunahme der Leukozytenkonzentration bis zum sogenannten Erwachsenenspiegel gekennzeichnet ist.

WRIEG (46) konnte eine Abhängigkeit der Gesamtzahl der Leukozyten vom hygienischen Status der Tiere nachweisen. Keimfrei gehaltene Tiere erreichten dabei deutlich niedrigere Werte als SPF-Tiere. Die höchsten Werte erreichten in seiner Untersuchung konventionell gehaltene Tiere. Tiere aus SPF- bzw. Keimfrei-Beständen, die nach dem Absetzen im Alter von 21 Tagen konventionalisiert wurden, wiesen mit zunehmendem Alter höhere Leukozytenkonzentrationen als ihre weiterhin SPF und keimfrei gehaltene Artgenossen auf:

Tab.2: Leukozyten (10^9 /l Blut) (Medianwerte nach WRIEG):

Alter in Tagen	Keimfreie Tiere	SPF- Tiere	Konventionell gehaltene Tiere
0	3,0	3,7	4,2
28	3,6	4,5	7,2
64	7,1	8,2	9,8
70	7,8	9,1	10,6
98	8,1	9,4	10,6

Unterschiede zu nicht umgesetzten Tieren:

Alter in Tagen	Keimfrei / Konventionalisiert	SPF / Konventionalisiert
21	Umsetzen	Umsetzen
22	+ 0,7	+ 0,5
28	+ 1,3	+ 1,3
70	+ 1,8	+ 1,0
98	+ 2,0	+ 1,0

2.3.2. Differentialblutbild:

Ratten verfügen über ein vorwiegend lymphatisches Blutbild (46). Die Lymphozytenzahl erhöht sich in ähnlichem Maße wie die Anzahl der Gesamtleukozyten bis zum 3. - 6. Monat und nimmt danach wieder geringfügig ab. Die Zahl der neutrophilen Granulozyten erreicht die höchsten Werte im Alter von etwa einem Jahr. Monozyten und Eosinophile verhalten sich ähnlich und erreichen Anteile am Gesamtblutbild von 1-6%

bzw. 1-4%. Basophile Granulozyten sind im allgemeinen nicht zu sehen. Sie sind nur durch Spezialfärbungen sichtbar zu machen (Toluidinblau). Verschiedene Autoren berichten über einen höheren Anteil von neutrophilen Granulozyten bei konventionell gehaltenen Tieren gegenüber SPF und keimfrei gehaltenen. In der folgenden Übersicht werden einige Werte von männlichen Long-Evans-Ratten vorgestellt, die die bereits angesprochenen Diskrepanzen verdeutlichen sollen.

Tab. 3: Leukozytenkonzentrationen und Differentialblutbilder von Long-Evans-Ratten
 Linsbündig eingetragene Werte nach SCHÄLM, Vet.hematology (42)
 Rechtsbündig eingetragene Werte nach KOZMA et al. (41)

Alter in Tagen/Mon.	Leukozyten ($10^9/l$)	Neutrophile (%)	Lymphozyten (%)	Monozyten (%)	Eosinophile (%)
26-30	4,0 $\pm$ 0,9	16,1 $\pm$ 8,2	78,8 $\pm$ 7,7	4,2 $\pm$ 2,9	0,9 $\pm$ 0,7
37-75	8,5 $\pm$ 2,2	16,8 $\pm$ 5,7	78,3 $\pm$ 7,1	3,4 $\pm$ 2,5	1,5 $\pm$ 1,9
2mon	12,3 $\pm$ 3,0	14,8 $\pm$ 4,1	77,2 $\pm$ 6,7	6,8 $\pm$ 3,6	1,2 $\pm$ 1,2
3mon	8,8 $\pm$ 2,3	22,2 $\pm$ 5,8	74,6 $\pm$ 5,7	2,2 $\pm$ 1,2	1,7 $\pm$ 1,5
4mon	11,1 $\pm$ 2,2	19,0 $\pm$ 7,1	74,1 $\pm$ 6,7	6,2 $\pm$ 2,4	0,7 $\pm$ 0,5
4-6mon	10,2 $\pm$ 2,8	20,2 $\pm$ 5,6	75,9 $\pm$ 5,9	1,8 $\pm$ 1,5	2,1 $\pm$ 1,5
8mon	13,5 $\pm$ 3,3	24,4 $\pm$ 8,9	66,2 $\pm$ 10,4	5,7 $\pm$ 3,1	3,7 $\pm$ 2,9
7-12mon	9,6 $\pm$ 2,0	27,3 $\pm$ 8,1	66,8 $\pm$ 9,1	3,1 $\pm$ 2,2	3,4 $\pm$ 2,4
12mon	11,4 $\pm$ 2,9	22,64 $\pm$ 7,7	66,2 $\pm$ 8,9	5,9 $\pm$ 3,8	5,2 $\pm$ 2,9
13-15mon	9,6 $\pm$ 3,4	36,0 $\pm$ 8,0	56,0 $\pm$ 7,6	5,2 $\pm$ 3,3	3,1 $\pm$ 2,1
24mon	9,4 $\pm$ 3,2	26,0 $\pm$ 17,8	70,1 $\pm$ 18,4	0,8 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 2,1

2.3.3. Immunglobuline

Die Klassifizierung der Immunglobuline der Ratte erfolgt vereinheitlicht nach dem Vorschlag von BAZIN et al. (47). Sie bestimmten die Serumkonzentrationen mit der radialen Immundiffusion nach Mancini und benutzten zur Herstellung der monovalenten Antisera von ihnen erstmals beschriebene Immunocytochrome. Diese ileocaecalen Immunocytochrome von LOU/Wsl-Ratten produzieren monoklonale Immunglobuline der verschiedenen Immunglobulinklassen und -subklassen.

Klassen und Subklassen	mittlere Konzentration in g/l
IgM	0,56
IgA	0,13
IgE	0,02
IgD	0,008
IgG ₁	5,85
IgG _{2a}	8,00
IgG _{2b}	1,3
IgG _{2c}	2,6

Einen Eindruck über die Lokalisation in der Immunelektrophorese gibt folgende Abbildung nach BAZIN et al.:

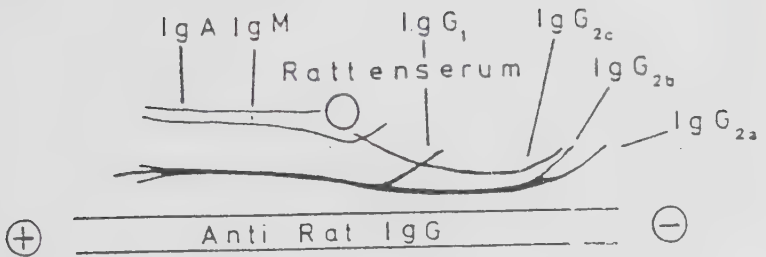


Abb. 1: Schematische Darstellung der Rattenimmunglobuline
nach immunelektrophoretischer Trennung
(BAZIN et al. 1974)

Ratten gehören zu den Tieren, die sowohl in utero als auch post partum befähigt sind, Immunglobuline aufzunehmen. Nach Angaben von GRUBER (48) und anderen von ihm erwähnten Autoren erfolgt eine Übertragung maternaler Immunglobuline bereits intrauterin, wobei der genaue Weg noch nicht feststeht. In der Kolostral- und Säugeperiode werden vom jungen Rattendarm nur Antikörper der IgG_1 und IgG_2 Klasse resorbiert. Das elektrophoretisch langsamere IgG_2 wird dabei deutlich bevorzugt. Der Höhepunkt der Resorption schwankt individuell zwischen dem 20. und 23. Lebenstag. Dann ist der IgG_{2a} -Spiegel der Säuglinge annähernd gleich dem mütterlichen Serumspiegel. Vor der ersten Kolostrumaufnahme werden Werte von 0,4 bis 0,8 g/l angegeben, die bis zum 21. Lebenstag dann kontinuierlich ansteigen. Danach ist bis zum 34. Tag ein Abfall zu verzeichnen, der erst durch die Eigenproduktion von Immunglobulinen wieder aufgefangen wird. Im weiteren Verlauf kommt es daher zu einem erneuten Ansteigen der Serumkonzentrationen. Dieser Anstieg von Immunglobulinen findet sein Ende im sogenannten Erwachsenen Spiegel, der im allgemeinen um den 100. Tag erreicht wird. Einen großen Einfluß auf gemessene Immunglobulinwerte besitzt demzufolge das Alter der Tiere.

Eine weitere bedeutende Einflußgröße ist der hygienische Status der Tiere. So stellt ZILLMANN (49) in seiner Arbeit fest, daß die IgG_{2a} -Spiegel von adulten SPF-Tieren nur etwa die Hälfte, diejenigen von keimfrei gehaltenen nur etwa ein Zehntel der Spiegel konventionell gehaltener Tiere betragen. Es lag nun nahe zu vermuten, mittels IgG_{2a} -Werten sei es möglich, Aussagen über den hygienischen Status der Tiere zu machen. Dem steht gegenüber, daß es innerhalb von Tiergruppen, die denselben exogenen Antigenstimuli ausgesetzt waren, eine relativ große Variationsbreite gibt (50). Untersuchungen von RIEH (51) zeigen, daß etwa 20% der

Gesamtvariabilität von IgG_{2a} -Spiegeln durch Unterschiede in den Würfen verursacht wird, in extremen Fällen sogar bis zu 70%. DIETZEL-RÜHL (52) kommt zu der Auffassung, daß es unabdingbar sei, die IgG_{2a} -Spiegel von mindestens neun Tieren zu messen, um Aussagen über den hygienischen Status eines Bestandes machen zu können. Vergleiche in Untersuchungen lassen sich also ähnlich wie bei den Leukozyten nicht anhand von Normwerten, sondern nur mit möglichst vergleichbaren Tieren anstellen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

Ausgangspunkt meiner Arbeit war die von BRINKMANN (7) bzw. BRINKMANN, BAYER und WITKE (1) im Laufe eines einjährigen Langzeitversuchs nach zehn Monaten beobachtete Verminderung der Leukozytenkonzentration bei Ratten. Die Tiere waren während dieser Zeit einem elektrischen Wechselfeld (100 kV/m) technischer Frequenz (50 Hz) ausgesetzt. Wegen der geringen Verschiebestrome (s.o.) wurde die Leukopenie tentativ als "Außenwirkung" interpretiert. Eine gehemmte Vermehrung von Bakterienkulturen, wie sie im hiesigen Institut beobachtet wurde (58), ließ an einen geringeren Antigendruck auf die im Feld befindlichen Tiere und eine deshalb verzögerte Entwicklung des körpereigenen Abwehrsystems denken. Nach einem Hinweis von WITKE (58) war die Leukopenie in dem Versuch von BRINKMANN hauptsächlich auf eine deutliche Verminderung der Lymphozytenkonzentration zurückzuführen. Dies veranlaßte uns an immunsuppressive Wirkungen einer Belastungssituation zu denken, und deshalb in weiteren Versuchen nicht nur die Anzahl von Leukozyten unter Feldeinfluß zu beobachten, sondern zusätzlich Einblicke in das Verhalten der Immunglobuline zu gewinnen. Nach den Arbeiten von WRIEG (46) und ZILLMANN (49) gibt es direkte Beziehungen zwischen Leukozytenkonzentration und Immunglobulinen einerseits, so wie dem mikrobiellen Klima der Umgebung andererseits. Da diese Beziehungen sich sehr deutlich in der Wachstumsperiode unmittelbar nach dem Absetzen zeigen, entschieden wir uns, die Tiere im entsprechenden Alter von 21 Tagen in den Versuch zu stellen und bis zum Alter von 3 - 4 Monaten wöchentlich Blutproben zu nehmen, um so eine Verlaufskontrolle hinsichtlich des weißen Blutbildes und der Immunglobuline zu erhalten. Da der Ansatz meiner Untersuchung sich aus einem Befund von BRINKMANN ergab, wurde darauf geachtet, unter möglichst ähnlichen Versuchsbedingungen zu arbeiten.

3.1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Long-Evans-Ratten aus dem SPF-Bestand des Instituts für Versuchstierkunde. Ratten erhalten Immunglobuline über die Muttermilch bis zu etwa 21 Tagen post partum. Danach werden die Tiere in der Regel abgesetzt. Der von den Jungtieren zu diesem Zeitpunkt erreichte Immunglobulinspiegel entspricht weitgehend dem Serumspegel des nährenden Tieres. Daher wurden bei der Aufzucht Ammengruppen gebildet, um die exogene Zufuhr von Immunglobulinen innerhalb der Gruppen gleich und damit auch die Streuung möglichst gering zu halten. Für die Zucht wurden 12 Elternpaare eingesetzt. Trotzdem war das Verhältnis männlicher zu weiblichen Tieren derart ungünstig, daß sich außer zwei Achtergruppen noch zwei Siebenergruppen ergaben. Im Alter von 21 Tagen wurden die Tiere dann abgesetzt und in das Experimentierfeld verbracht.

3.1.2. Versuchsanordnung

Die Untersuchungen wurden in dem für diese Zwecke eingerichteten Hochspannungsraum des Instituts für Veterinär-Physiologie durchgeführt. Von den ca. 35m² Grundfläche sind 15m² durch eine Sicherheitszone abgetrennt. In diesem Teil wurden die Blutentnahmen, Gewichtsmessungen, Reinigung der Käfige etc. vorgenommen. Bei der Versuchsanordnung stehen die Käfige der Tiere auf geerdeten Aluminiumplatten. Als Elektroden sind zwei runde Aluminiumbleche von 120 cm Durchmesser mit Perlonfäden an der Decke aufgehängt. Die spannungsführende Elektrode ist mit einem 110 KV-Spannungswandler verbunden. Zur Vermeidung äußerer Teilentladungen und damit von Ozonbildung sind Transformator, Elektroden

und Zuleitung durch Westaflexschläuche (Durchmesser 10 cm) abgeschirmt. Im Raum herrschte eine durchschnittliche Temperatur von 22°C, Luftdruck und relative Feuchte entsprachen den jeweiligen Wetterbedingungen. Diese Werte wurden mittels eines Schreibers fortlaufend registriert. Die Fenster des Versuchsraumes waren mit Verdunkelungspapier lichtundurchlässig gemacht, so daß mit Hilfe einer Zeitschaltuhr ein 12 h / 12 h Hell-Dunkel-Rhythmus eingestellt werden konnte. Vor Beginn des Versuchs wurde eine Desinfektion des Raumes und der Geräte vorgenommen.

Zur Haltung der Tiere wurden durchsichtige Käfige von 45 x 25 cm Grundfläche und einer Höhe von 15 cm benutzt. In dem abnehmbaren Deckel von 6 mm Dicke waren jeweils zwei Trinkflaschen aufgehängt. In der einen, die mit einem größeren Loch versehen war, befand sich pelletiertes Trockenfutter (Altromin Standarddiät), in der anderen Aqua dest., welches durch einen Saugnippel, hergestellt aus einem Eppendorf-Probengefäß, zugänglich war. Als Einstreu wurde das übliche Weichholzgranulat verwendet.

Um ein möglichst ungestörtes Feld zu erhalten, wurden sämtliche Materialien aus PVC-Kunststoffmaterial gewählt. Die geringere Leitfähigkeit, relativ dünne Beschaffenheit, so wie die parallele bzw. senkrechte Anordnung zu den Feldlinien, läßt die Brechung und Verzerrung der Äquipotentiallinien durch die Käfige vernachlässigbar klein erscheinen. Ein besonderes Problem stellt die Trinkwasserversorgung dar. Selbst bei destilliertem Wasser muß mit einer um das Achtzigfache erhöhten Dielektrizitätskonstanten gerechnet werden. Es resultiert hieraus eine ca. dreifache Erhöhung der Feldstärke in der unmittelbaren Umgebung des Trinkwasservorrats. Das übrige Feld im Käfig wird davon allerdings nur unwesentlich gestört. BRINKMANN führte Ozonmessungen und Leitfähigkeitsmessungen an den Käfiginnenwänden durch. Beide Messungen ergaben keinen Hinweis auf nennenswerte Beiträge im Feld.

Die Verteilung der Ratten erfolgte so, daß sich in keinem Käfig mehr als ein Tier aus einer der vier Ammengruppen (A-D) befand. Sowohl die Verteilung der Tiere, wie auch der Käfige in Feld- und Kontrollgruppe erfolgten zufällig. Die Kennzeichnung der Tiere wurde mit einem Folienschreiber in Form von Symbolen am Schwanz der Tiere vorgenommen.

Tab.4: Schema der Verteilung

	FELD					KONTROLLE			
Käfig	1	2	3	4		1	2	3	4
	A	A	A	A		A	A	A	A
	B	B	B	B		B	B	B	B
	C	C	C			C	C	C	C
	D	D	D	D		D	D	D	

Es standen also jeweils vier Käfige unter einer der beiden Elektroden, von denen die eine spannungsführend war. Sie erzeugte eine ungestörte Feldstärke von 100 kV/m, so daß am sitzenden Tier unter Annahme eines Erhöhungsfaktors drei mit einer Feldstärke von 300 KV/m zu rechnen war.

Im Alter von sechs Wochen, am 43. Tag, wurden die Gruppen C und D mit jeweils 100 μ g Ovalbumin, gelöst in PBS-Puffer, emulgiert in 25 μ l Freund's Adjuvans (komplettes H 37 Ra-Adjuvans) durch Injektion in die rechten hinteren Fußballen immunisiert. Diese Dosis wurde von VOS et al. (53) als optimal bezeichnet, um bei der Ratte eine funktionelle Einschätzung des humoralen Abwehrsystems hinsichtlich der IgM, IgG und IgA-Antwort vornehmen zu können. Makroskopisch kam es an der rechten Hinterpfote zu einer starken Schwellung, die im Lauf der Zeit zurückging und sich bei der abschließenden Untersuchung als stecknadelkopfgroßer Abszeß darstellte. Es kam bei keinem der Tiere zur Bildung eines Ulcus oder gar einer Nekrose wie es teilweise in der Literatur (54) beschrieben wird.

In zunächst wöchentlichem, gegen Ende des Versuchs zweiwöchentlichem Abstand wurde den Tieren Blut entnommen, das zur Zählung der Leukozyten, zur Differenzierung derselben und zur Serumgewinnung diente. Zählung der Leukozyten sowie Anfertigung und Färbung des Blutausriches wurden am selben Tag vorgenommen, das Serum für die weiteren Untersuchungen tiefgefroren (-20°C).

Die Blutentnahmen fanden stets in der Zeit von 8^{00} - 10^{00} h statt.

3.1.3. Untersuchungstechnik

3.1.3.1. Blutentnahme

Als Blutentnahmetechnik wurde die Punktion des retroorbitalen Venenplexus nach NÜLLER (55, 56, 57) gewählt. Dabei wird im medialen Augenwinkel zwischen Bulbus und Orbita unter drehenden Bewegungen die Konjunktiva durchbohrt, bei gleichzeitiger Stauung im seitlichen Halsbereich. Als Punktionsinstrumente dienten Hämatokritkapillaren, aus denen nach Zentrifugieren Serum für die Elektrophorese gewonnen wurde. Aus dem regelmäßig nach der Punktion austretenden Blutstropfen wurde das Material für Leukozytenzählung und Blutausrich gewonnen. Es konnten während des gesamten Versuchs wie auch in der abschließenden Untersuchung keine Hinweise für eine Hämatom- oder Abszeßbildung beobachtet werden. Die Blutentnahmen der Tiere erfolgten im Ätherrausch, wozu sie in einen Glasbehälter gesetzt wurden, in dem sich ein mit Äther pro narcosi getränkter Wattebausch befand. Die Tiere überstanden die Prozedur mit nur einer Ausnahme. Bei einer Ratte kam es während der Betäubung zur zweiten Blutentnahme zu einem irreversiblen Kreislaufversagen, das wahrscheinlich auf eine zu starke Erregung schon beim Herausnehmen aus dem Käfig zurückzuführen war.

3.1.3.2. Leukozytenzählung und Differenzierung

Die Leukozytenzählung wurde in der Kammer nach Bürker-Türk vorgenommen, wobei jeweils vier große Quadrate ausgezählt wurden. Zur Bestimmung wurde das Blut anfangs in einem Verhältnis von 1 : 10 mit Türkscher Lösung verdünnt, gegen Ende des Versuchs wegen steigender Zellkonzentrationen in einem Verhältnis von 1 : 20. Zur Differenzierung wurden Blutaussstriche hergestellt und nach Pappenheim gefärbt. Für die Auswertung wurden pro Blutaussstrich 200 Zellen durchgesehen.

3.1.3.3. Immunoglobulinbestimmung

Um einen Einblick in das Verhalten von humoralen Abwehrstoffen zu gewinnen, wurde als Methode die modifizierte Agarosegelelektrophorese nach SIEGERT (59) gewählt. Sie gibt mit einer sehr kleinen Menge von Probenmaterial einen breiten Überblick der Verteilung von Proteinen im Serum. Da die quantitative Bestimmung einer kleinen Globulinfraktion wie dem IgG in einer Normalelektrophorese relativ unsicher ist, wurden zur genaueren Darstellung und zur Überprüfung der Ergebnisse gedehnte Elektrophoresen hergestellt. Die zur Ermittlung der individuellen Arbeitsgenauigkeit durchgeführten Vorversuche bestätigten die Unsicherheit der Normalelektrophorese im IgG-Bereich (Variationskoeffizient von 23%), und die größere Sicherheit und damit auch Reproduzierbarkeit bei der gedehnten Elektrophorese (Variationskoeffizient von 9,6%).

3.1.3.3.1. Agarosegelelektrophorese

Für die Herstellung der Gelträger wurden Objekträger (100 x 26 mm) zunächst nach dem Prinzip der Blutausschichtmethode mit einer dünnen Agaroseschicht versehen. Die hierzu benutzte Indubiose A 37 (Seakam-Me gleichwertig) wurde aus 75 % Puffer (Barbital Na/Barbital + Ca-lactat), 1,2%iger Agarose und einem Zusatz von 0,01% Thiomersal hergestellt. Nach dem Trocknen dieser Agaroseschicht wurden jeweils 6 Träger auf einem Vakuumgießtablett ausgelegt und 25 ml einer auf 60°C temperierten Agaroselösung auf die durch das Vakuum am Boden des Tablett fixierten Objekträger mit einer Pipette gleichmäßig verteilt. Nach Erstarren der Agaroselösung wiesen die Gelträger eine Schichtdicke von 1,6 mm auf.

Für die Auftragung des Serums wurden mit einer Saugstanze 0,8 x 8 mm große und 1,6 mm tiefe Gräben als Startschlitze, in die Gelträger gestanzt. Anschließend wurden 4 µl Serum je nach Proteinkonzentration mit 14 - 20 µl auf 50°C temperierter Agaroselösung mit dem Ziel gemischt, nach der Auftragung eine einheitliche Proteinmenge von 9 µg/mm in den Startschlitzen zu erreichen. Durch die Verwendung einer automatischen Mikropipette wurde sichergestellt, daß stets die gleiche Menge von 10 µl des Serum-Agarose-gemisches in die Startschlitze eingebracht wurde. Die bis zum Rand mit dem Gemisch gefüllten Schlitze wurden zusätzlich mit 20 µl Agaroselösung versiegelt. Die Elektrophorese wurde anschließend bei einer Feldstärke von 20 V/cm, 90 min, durchgeführt.

Die Gelträger für die gedehnte Elektrophorese wurden im Prinzip wie die für die Normalelektrophorese beschriebenen hergestellt. Anstelle der 1,2%igen Indubiose wurde 2%ige LSB-Agarose verwendet. Die Auftragungsschlitze wurden 2cm vom kathodischen Ende des Trägers in das Gel eingestanzt und das Protein-Agaroseverhältnis so gewählt, daß 28µg Pro-

tein/mm aufgetragen wurden. Die elektrophoretische Trennung erfolgte 130 min bei einer Feldstärke von 35 V/cm, entsprechend einem Strom von 200 mA. Aufgabe der gedehnten Elektrophorese war es, unter Auftragung größerer Proteinmengen und dem Verlust des in die Anode wandernden Albumins, eine gedehnte, intensive Darstellung des Immunglobulinbereichs zu erzielen.

Beide Arten der Elektrophorese wurden in der von SIEGERT entwickelten Apparatur durchgeführt. Die Temperatur der Gelträger wurde während der Trennung mit Hilfe des thermostatisierten, die Träger allseits umgebenden Petroläthers auf 10°C eingestellt. Nach anschließender einstündiger Fixierung in 5%iger wässriger Essigsäure wurden die Träger 4 h zum Entzug der Puffersalze in Aqua dest. mit einem Zusatz von 0,01 % Thiomersal gewässert. Nach mehrstündiger Trocknung bei 40°C, die meist über Nacht erfolgte, wurden die Träger 30 min in einem Automaten mit Amidoschwarz 10 B (5 g Farbstoff, 50 ml Eisessig ad 1000 ml Aqua dest.) gefärbt und anschließend 30 min in 2%iger Essigsäure entfärbt.

Zur Aufzeichnung der Phoretogramme wurde das Chromatogrammspektrophotometer der Fa. Zeiss (5 x 0,04 mm; 30 mm/min) in Verbindung mit einem W+W-Schreiber 1100 (10 cm/min) verwendet. Die Aufzeichnung des Phoretogrammes erfolgte bei 610 nm bzw. zur Erfassung des Albuminpeaks bei 482 nm (Wellenlängenumrechnungsfaktor 3,71) (siehe Abb. 2). Die Auswertung der Phoretogramme aus der Normalelektrophorese wurde mit einem von SIEGERT und SIEMES modifizierten Analogrechner vorgenommen. Hierbei wurden die registrierten Phoretogramme auf dem Analogrechner mit Hilfe von elektronischen Generatoren, mit denen Gauss-Kurven variabler Höhe und Breite zu beliebigen Horizontalpositionen erzeugt werden können, entsprechend den verschiedenen Proteinfractionen nachgebildet. Anschließend wurde durch

Addition der kleinstmöglichen Anzahl weiterer Normalverteilungen die vollständige Nachbildung des vorliegenden Phoretogramms durchgeführt (siehe Abb. 3). Die Positionen der für die Analysen benötigten Gauss-Kurven wurden in Vorversuchen ermittelt und für alle Analysen festgelegt. Die den Flächen unter den einzelnen Kurven entsprechenden Integrationswerte sowie Höhe, Breite und Position der einzelnen Fraktionen wurden auf einem Fernschreiber ausgedruckt. Gleichzeitig wurden das nachgebildete Phoretogramm und unter dieses die einzelnen zur Synthese benutzten Normalverteilungen mit einem XY-Schreiber aufgezeichnet. Die Berechnung der Eiweißkonzentrationen der einzelnen Fraktionen erfolgte unter Verwendung der berechneten prozentualen Integrationswerte und den zuvor bestimmten Gesamteiweißwerten des entsprechenden Serums.

Zur Auswertung der gedehnten Elektrophorese wurden ebenfalls Phoretogramme geschrieben und die Fläche des IgG-Bereichs zwischen Transferrin und Schlitzposition mit einem MDP-Integralschreiber ausgemessen (Abb. 4). Eine quantitative Bestimmung war dadurch allerdings noch nicht möglich. Die Auswertung erfolgte über Integratoreinheiten (Ie) und ermöglichte so anhand eines Diagrammes eine Überprüfung der Ergebnisse aus der Normalelektrophorese.

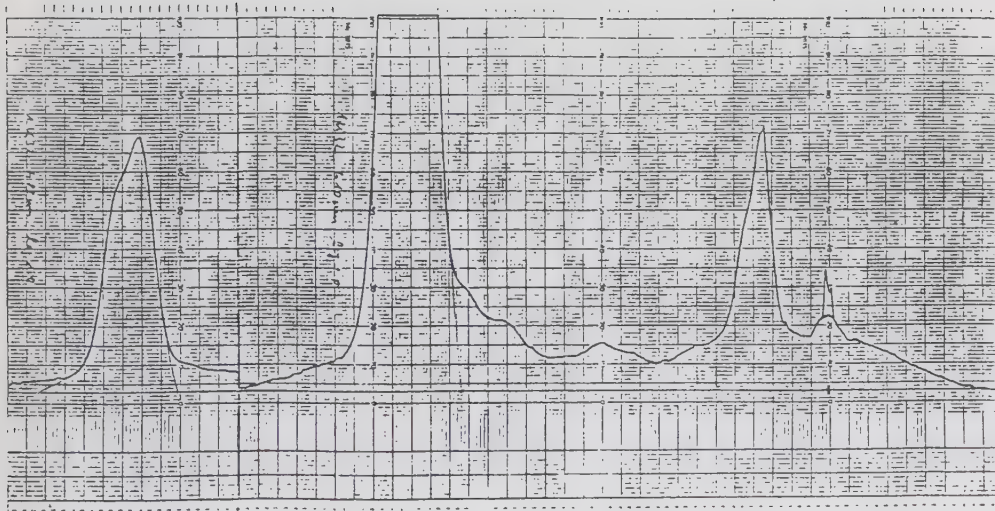


Abb. 2: Phoretogramm einer Normalelektrophorese (610 nm)
und des zugehörigen Albuminanteils (482 nm)

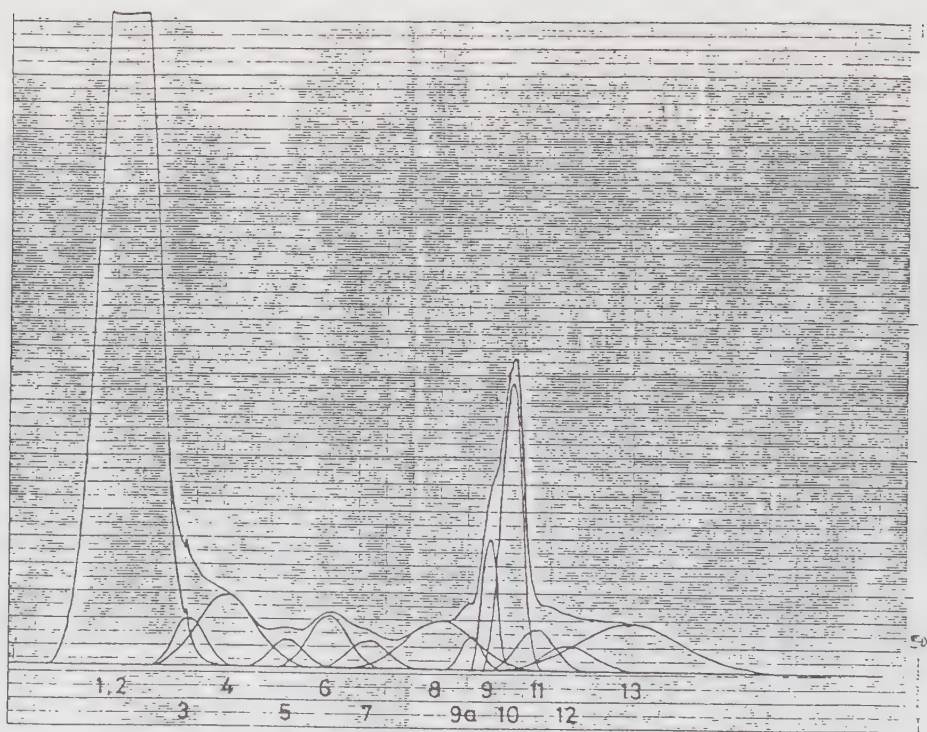


Abb. 3: Mit Hilfe von Gauss-Kurven nachgebildetes
Phoretogramm der Abb. 2

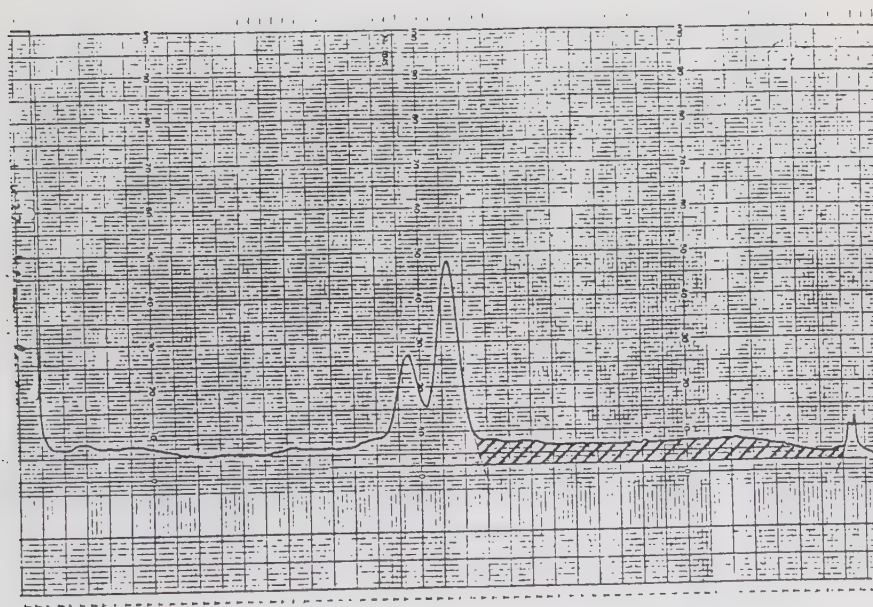


Abb. 4: Phoretogramm einer gedehnten Elektrophorese
mit Darstellung des ausgewerteten Bereichs

3.1.3.3.2. Gesamteiweißbestimmung

Wegen des geringen Probenmaterials diente zur Gesamteiweißbestimmung eine modifizierte Mikromethode mit einem durch Harnstoffzusatz veränderten Biuretreagenz.

Reagenzien: Stamm-Lösung:

4,5 g K-Na-Tartrat werden mit 40ml 0,2m NaOH gelöst. 1,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ werden unter starkem Rühren zugesetzt und anschließend 0,5g KJ zugegeben. Das Ganze wird dann mit 0,2m NaOH auf 100ml aufgefüllt.

Verdünnungslösung:

5g KJ werden mit 0,2m NaOH auf 1l gelöst.

Biuret-Reagenz:

36g Harnstoff werden in einem Gemisch von 20ml Stammlösung und 50ml Verdünnungslösung gelöst, und mit weiterer Verdünnungslösung auf 100ml aufgefüllt.

Meßansatz:

	Probe	Rg-Lw
Rattenserum	2 μ l	-
dest. H_2O	-	2 μ l
Biuretreagenz	500 μ l	500 μ l

Berechnung:

Zur Ermittlung des Gesamteiweißgehaltes wurden ein Standardserum, sowie zwei Kontrollseren mit bekanntem Eiweißgehalt unter den gleichen Meßbedingungen mitgeführt. Der aus der gefundenen Extinktion des Standards und dessen bekanntem Eiweißgehalt zu errechnende Faktor diente zur Ermittlung der Eiweißkonzentration.

3.1.3.4. Weitere Untersuchungen

Die Tiere wurden im Alter von 112 Tagen nach vorhergehender Betäubung entblutet und durch Dekapitation getötet. Nach allgemeiner Begutachtung der inneren Organe und insbesondere der Punktions- und Immunisierungsstellen wurden dem Tierkörper Thymus, Leber und Milz, sowie der Femurknochen entnommen. Thymus, Leber und Milz wurden gewogen, der Femurknochen frakturiert, und im Anschluß in 4%ige Formalinlösung eingelegt. Vom Knochenmark wurden histologische Schnitte angefertigt und mit Hämalaun-Eosin, sowie nach Giemsa gefärbt. Im Zusammenhang mit den Blutentnahmen erfolgte eine regelmäßige Gewichtskontrolle der Tiere.

3.2. Kritik der Methode

Es ist bekannt, daß die Anzahl der Leukozyten im Blut und die Serumkonzentration von Immunglobulinen bei der Ratte in den ersten Lebensmonaten einen charakteristischen Verlauf nimmt. So steigt die Leukozytenkonzentration von postpartal etwa $2-4 \times 10^9$ Zellen/l alters- und haltungsabhängig auf Werte von $8-14 \times 10^9$ Zellen/l an. Das bei der Ratte am stärksten vertretene Immunglobulin IgG_{2a} wird während der Säugeperiode auf dem mütterlichen Spiegel gehalten. Nach dem Absetzen erreichen diese Werte durch den Ausfall der zuführenden Quelle im Alter von sechs Wochen einen Tiefstand, um danach bis zum Erwachsenenalter durch Eigensynthese von Immunglobulinen wieder kontinuierlich zuzunehmen. Für vergleichende Untersuchungen von zwei Gruppen sollten sich die daran beteiligten Tiere zu Beginn eines Versuchs in einem möglichst identischen Zustand befinden. Es ist nun aber bekannt, daß Ratten in Bezug auf

die Konzentration von Immunglobulinen im Serum eine sehr große individuelle Streuung zeigen (50,52). Für diese Variabilität werden beispielsweise endogen entstehende immunregulative Antikörper verantwortlich gemacht (50). Zusätzlich beeinflussen aber Alter, Haltungsbedingungen und Wurfzugehörigkeit (51) in großem Maße diese Werte. Für die Anzahl von Leukozyten im strömenden Blut stellen zumindest Alter und Haltungsbedingungen bedeutsame Einflußgrößen dar (46). Um also wenigstens die genannten äußeren Einflüsse für alle Tiere gleich zu halten, wurden, wie beschrieben, in einem SPF-Bestand vier Ammengruppen gebildet und der Versuch im Alter von 21 Tagen unmittelbar nach dem Absetzen gestartet.

Durch die Immunisierung sollte eine möglichst breite, für das Tier aber auch möglichst ungefährliche Stimulation des Abwehrsystems erreicht werden. Als Antigen wurde hierfür Ovalbumin mit Freundschem Adjuvans gewählt. Die zelluläre Reaktion darauf kann als gut angesehen werden und ermöglichte eine Einschätzung des Reaktionsvermögens. Auf der humoralen Seite wäre eine stärkere Reaktion wünschenswert gewesen. Eventuell hätten auch eine oder mehrere Booster-Injektionen noch deutlichere Ergebnisse gebracht. Die hauptsächlich angewandten Blutentnahmemethoden bei Ratten sind die Herzpunktion und die retroorbitale Venenpunktion. Die Herzpunktion liefert dabei zwar das qualitätsmäßig beste Material, stellt aber ein derart hohes Risiko für das Überleben der Tiere dar, daß eine gesicherte mehrmalige Blutentnahme vom selben Tier angesichts hoher Verlustraten nicht möglich erscheint. Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus ist bezüglich des gewonnenen Materials der Herzpunktion an Güte zwar unterlegen, erlaubt aber mehrmalige Entnahmen, auch unmittelbar hintereinander, ohne Lebensgefahr für die Tiere. Ein nicht zu unter-

schätzendes Problem bei Blutentnahmen ist die Infektionsgefahr. Sie gilt dabei als immunologisches Risiko, was zu einer ungewollten Stimulation des Immunsystems führen kann. TILGNER et al. (56) berichten hierzu, daß es bei retroorbitalen Venenpunktionen nur äußerst selten zu Nachblutungen und daraus folgender Hämatombildung, oder gar zu Entzündungserscheinungen kommt. Wie ich aus der Versuchserfahrung bestätigen kann, kam es nur bei einem der Tiere während Vorversuchen wahrscheinlich infolge noch mangelnder Technik zu einer Hämatombildung. Entzündungserscheinungen konnten nie beobachtet werden.

Zur Versuchsdauer wäre zu sagen, daß es sicherlich erstrebenswert gewesen wäre, einen ähnlich langen Versuch wie BRINKMANN (ein Jahr) durchzuführen. Andererseits zeigten sowohl Leukozytenkonzentration wie auch Serumelektrophorese nach drei Monaten eine konstante Entwicklung, so daß nur noch mit geringfügigen Veränderungen zu rechnen war. Zudem erlaubte die inzwischen erreichte Körpergröße der Tiere keine weitere Haltung in den dann zu eng werdenden Käfigen. Da zum Ende des Versuchs außerdem für alle Tiere pathologisch-anatomische Untersuchungen vorgesehen waren, wurden sämtliche Tiere im Alter von 112 Tagen aus dem Versuch genommen.

Zur immunologischen Untersuchung wurde die Methode der Serumelektrophorese benutzt. Sie diente weniger dazu, die einzelnen Immunglobuline in ihrer exakten Serumkonzentration zu bestimmen, sondern mehr in der Art eines Screenings ein Bild aller Proteinfractionen im Serum unter besonderer Berücksichtigung des IgG's, als der größten Immunglobulinfraktion, zu geben. Falls sich hierbei wesentliche Unterschiede in den Konzentrationen von Feld- und Kontrolltieren gezeigt hätten, sollten entsprechend gezieltere Untersuchungen von Immunglobulinen im Serum vorgenommen werden.

In der Normalelektrophorese werden die Prozentwerte sämtlicher Fraktionen ermittelt, und mit Hilfe des Gesamteiweißwertes können dann die einzelnen Proteinkonzentrationen in g/l ausgedrückt werden. Da nun bei relativ kleinen Proteinmengen mit niedrigen Prozentwerten die Fehlerquote entsprechend hoch ausfällt (Variationskoeffizient von 23 %) wurde zur Darstellung der IgG-Fraktion zusätzlich die Methode der gedehnten Elektrophorese verwendet, welche eine sehr viel höhere Auftragungsmenge des gesuchten Proteins ermöglichte. Somit ergab sich dadurch eine Möglichkeit der Doppelbestimmung, wobei zur Ergebnisermittlung der Gesamteiweißwert unberücksichtigt bleiben konnte.

Die in Vorversuchen ermittelte Arbeitsgenauigkeit (jeweils 18 Elektrophoresen vom gleichen Serum) zeigt die größere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der gedehnten Elektrophorese (Variationskoeffizient von 9,6%) gegenüber der Normalelektrophorese (23%). Die Verlaufskurven beider Bestimmungen ähneln sich in großem Maße, wobei gewisse Abweichungen mit der Unabhängigkeit der Integrale vom Gesamteiweißwert im Serum zu erklären sind.

Die quantitative Ermittlung des IgG aus der gedehnten Elektrophorese unter Bezug auf die Normalelektrophorese und das Gesamteiweiß scheiterte an den für beide Verfahren verwendeten unterschiedlichen Agarosesorten. Wie sich bei den Untersuchungen herausstellte, traten bei der Verwendung der LSB-Agarose Protein-Bestimmungsverluste auf. Diese sind darauf zurückzuführen, daß zur Verhinderung der durch negative Gruppen bedingten Elektroendosmose, welche eine passive Verschiebung der elektrophoretisch langsamen Immunglobuline in Richtung Kathode bewirkt, bei der LSB-Agarose positive Gruppen in das Molekül eingeführt wurden, durch die ein Teil der farbstoffaufnehmenden Gruppen blockiert wird. Hiervon werden auf engem Raum in hoher Konzentration vorliegende Proteine weniger betroffen, als solche, die in

niedriger Konzentration über eine weite Fläche des Geles verteilt sind. Wir stellten fest, daß die Proteinverluste zwischen 5 und 30 % liegen. Eine quantitative Analyse ist unter diesen Bedingungen nicht möglich.

Vergleicht man die Farbintensitäten der LSB-Elektrophoresen in sich, unter der Verwendung der Integratoreinheit als Meßgröße, so können auch die gedehnten Elektrophoresen ausgewertet werden.

4. ERGEBNISSE

4.1. Auswertungsmodus

In die graphische und tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse wurden jeweils Maximal-, Minimal- und Medianwerte aufgenommen.

Eine solche Darstellung läßt angesichts großer Streuungen etwaige Wirkungstendenzen am ehesten erkennen, da Medianwerte im Gegensatz zu arithmetischen Mitteln von Extremdaten wenig beeinflußt werden (60).

Die Leukozyten wurden vom 21. bis zum 70. Lebenstage wöchentlich und dann noch zweimal am 84. und 98. Lebenstag gezählt. Die Zählergebnisse nach der 3., 6., 7. und 10. Woche wurden in Bezug auf Feld und Immunisierungseffekte einer Varianzanalyse unterworfen.

Bei den Serumproteinen erfolgte eine Auswertung der Proben vom 21., 42., 56., 63., 84. und 112. Tag, die eine charakteristische Darstellung des Verlaufes der Entwicklung ermöglichten.

4.1.1. Gesamtzahl der Leukozyten (Abb. 6 und Abb. 7)

Betrachtet man die Gesamtzahl der Leukozyten im strömenden Blut, so sind die für Ratten charakteristischen Konzentrationen und ihr allmählicher Anstieg in diesem Lebensabschnitt erkennbar.

Während die Medianwerte der Kontrolltiere von anfangs $3,3 \times 10^9$ Zellen/l bis zum 98. Tag stetig auf etwa 12×10^9 Zellen/l zunehmen, ist der Anstieg bei den Feldtieren unstetig, eher stufenartig. Die Gesamtzahl der Leukozyten bleibt bei ihnen hinter derjenigen der Kontrolltiere zurück und erreicht am 98. Tag nur etwa 10×10^9 Zellen/l.

Auf den Antigenreiz am 43. Tag reagieren die betroffenen Ratten mit einer sprunghaften Erhöhung der Leukozytenkonzentration, und zwar gleichen Ausmaßes bei Feld- wie Nichtfeldtieren, allerdings mit unterschiedlichen Ausgangsniveaus. Im weiteren Verlauf gleichen sich die Zellzahlen beider Gruppen mehr oder weniger an, jedoch bleiben die Medianwerte der Feldtiere auch hier hinter denen der Kontrollen etwas zurück.

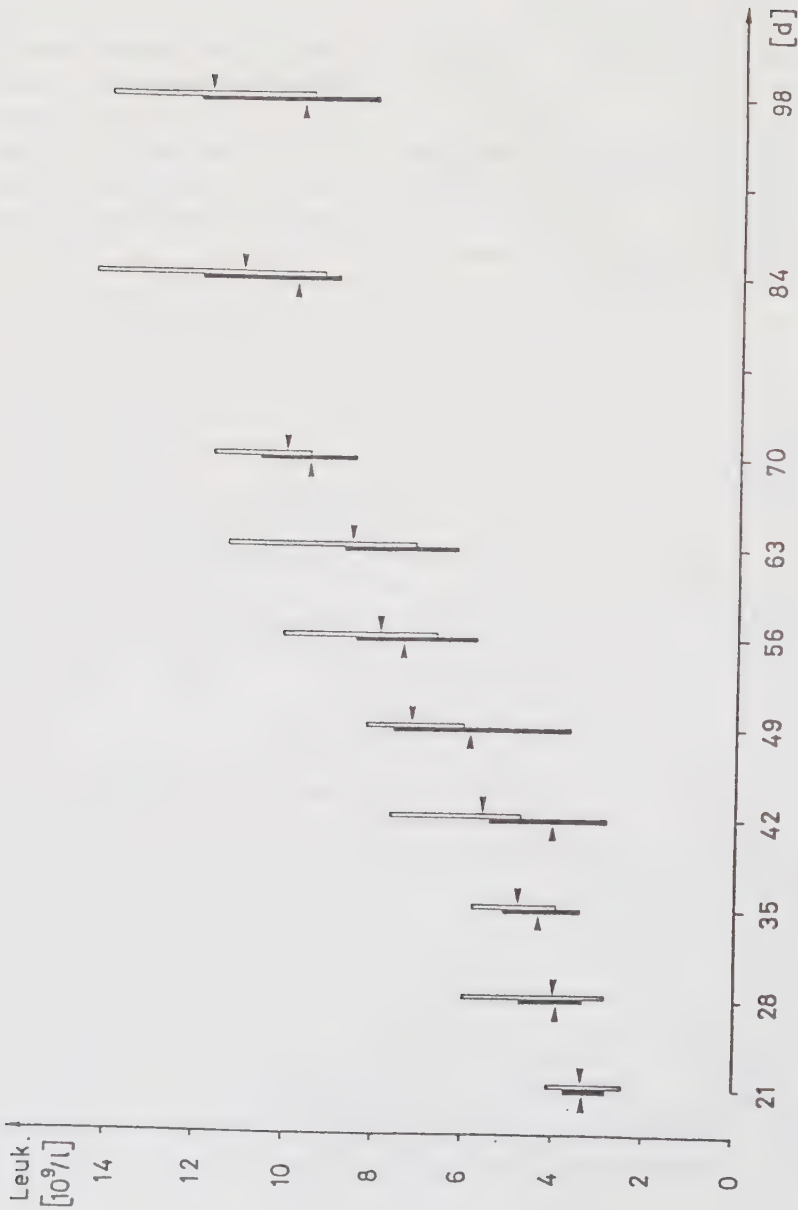


Abb. 5: Leukozytenkonzentrationen der nicht immunisierten Tiere
(Feldtiere, Kontrolltiere, Medianwerte)

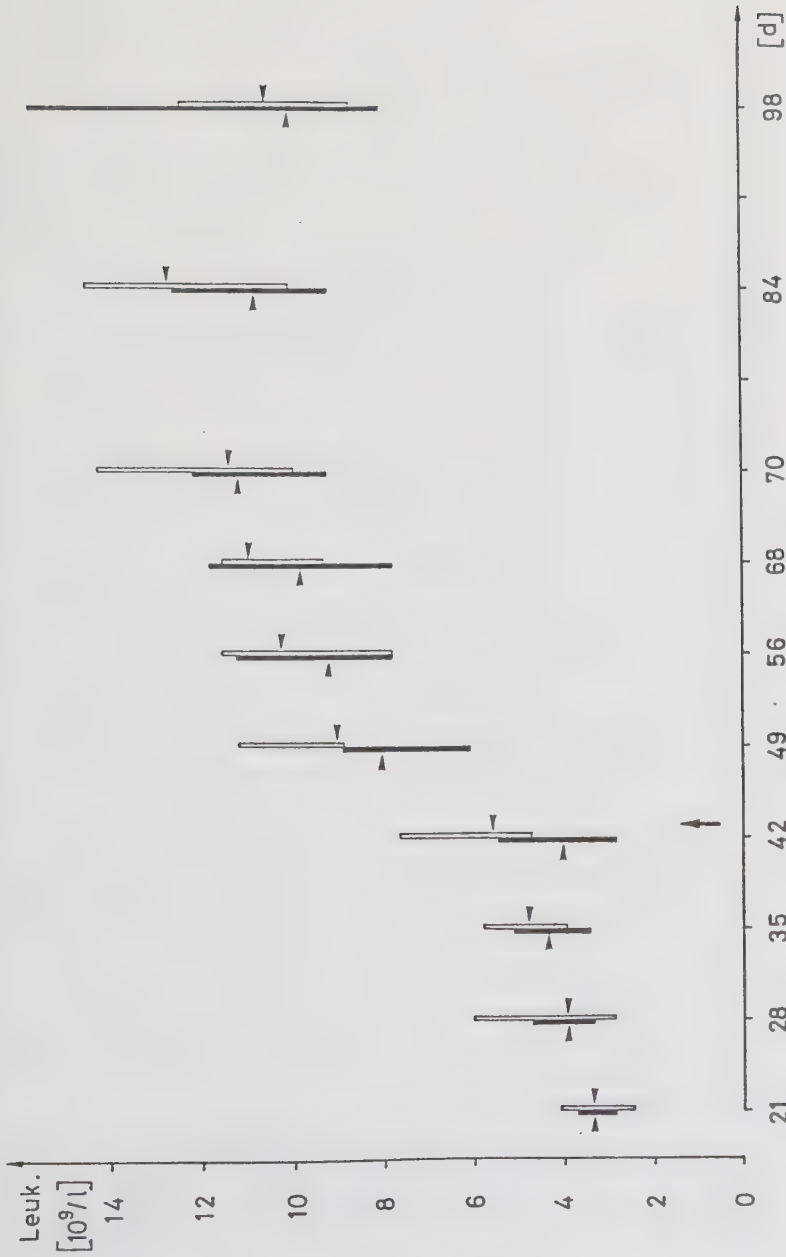


Abb. 6: Leukozytenkonzentrationen der immunisierten Tiere
([] Feldtiere, [] Kontrolltiere, ▲ Medianwerte, ▲ Immunisierung)

4.1.2. Differentialblutbild (Abb. 8 - 11)

Den Hauptanteil der Leukozyten im strömenden Blut der Ratte stellen die Lymphozyten. Sie sind beim jungen Tier (21 Tage) mit 80-90% im Gesamtblutbild vertreten, beim älteren Tier (90 Tage) noch mit 65 - 80%. Diese prozentuale Abnahme ergibt sich aus dem relativ stärkeren Anstieg der neutrophilen Granulozyten, der zweithäufigsten Zellart. Zellarten wie Monozyten und eosinophile Granulozyten waren unregelmäßig in geringer Anzahl (0-2%) zu beobachten und zeigten keine Tendenz zu Zu- bzw. Abnahme, so daß auf eine Auswertung verzichtet wurde. Basophile Granulozyten können bei der Ratte nur mit Hilfe einer Toluidinblaufärbung im Blutaussstrich dargestellt werden.

Infolge ihres hohen Anteils an den weißen Blutzellen zeigt die Änderung der Lymphozytenkonzentration in der Zeit einen ähnlichen Verlauf wie die der Gesamtleukozyten. Von anfangs ca. 3×10^9 Zellen/l nehmen die Kontrolltiere bis zum 98. Tag auf ca. 10×10^9 Zellen/l zu, die Feldtiere erreichen ca. 8×10^9 Zellen/l. Die immunisierten Tiere zeigen am 98. Tag fast keinen Unterschied, die Lymphozytenzahlen liegen im Feld wie im Nichtfeld bei ca. $8,3 \times 10^9$ Zellen/l.

Die Medianwerte der neutrophilen Granulozyten zeigen bei den nicht immunisierten Tieren nur geringe Unterschiede. Anfangswerten von etwa $0,35 \times 10^9$ Zellen/l stehen Endwerte von etwa $1,5 \times 10^9$ Zellen/l bei den Kontrolltieren und $1,25 \times 10^9$ Zellen/l bei den Feldtieren gegenüber.

Bei den immunisierten Tieren ist die Zahl der Granulozyten stark erhöht, wobei die Reaktion auf den Antigenreiz bei den Nichtfeldtieren wesentlich heftiger ausgefallen ist als bei den feldbelasteten Tieren.

Die Zahl der Lymphozyten wird zwar ebenfalls gesteigert, jedoch ist die Reaktion der beiden Gruppen in Feld und Nichtfeld nicht wesentlich verschieden.

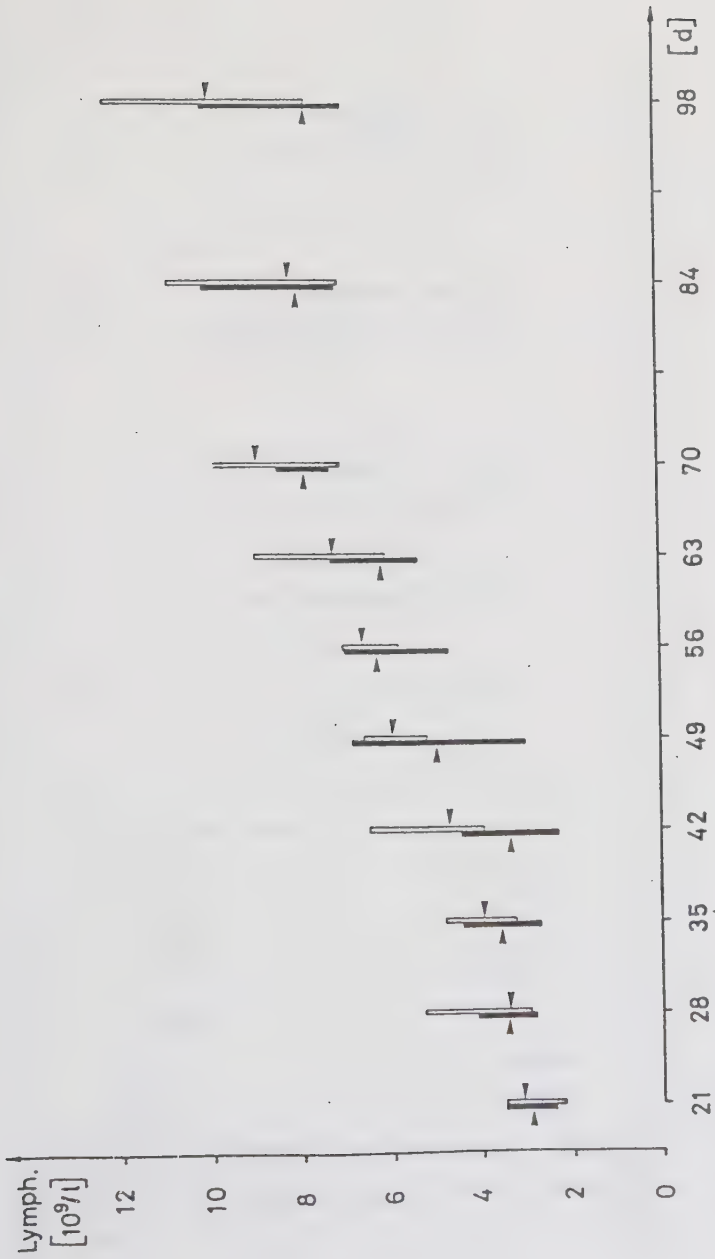


Abb. 7: Lymphozytenkonzentrationen der nicht immunisierten Tiere
(■ Felddie, □ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

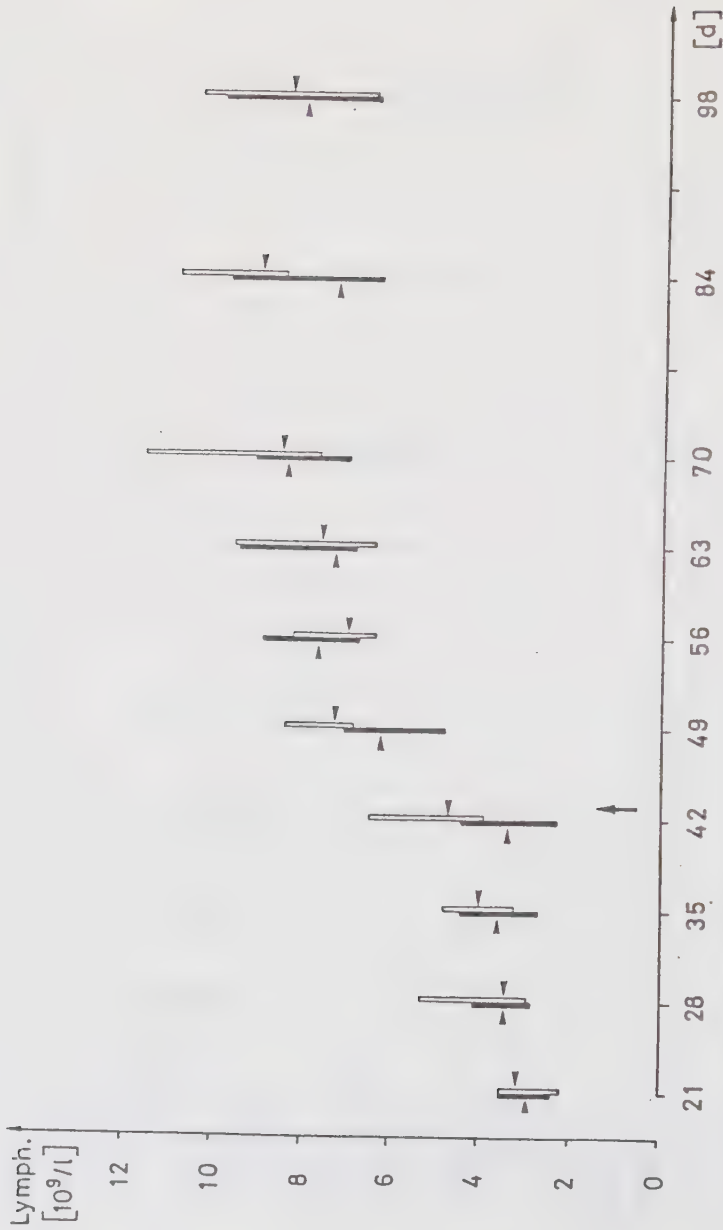


Abb. 8: Lymphozytenkonzentrationen der immunisierten Tiere
(■ Feldtiere, □ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte, ↑ Immunisierung)

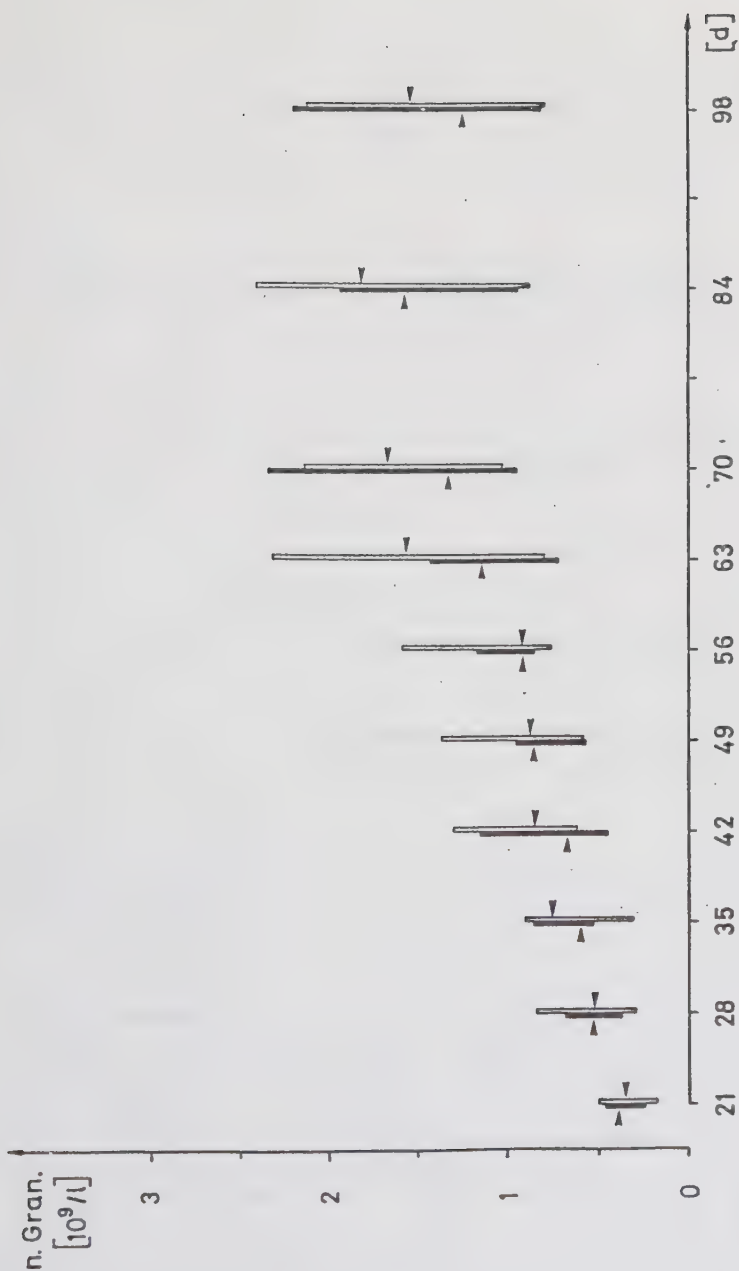


Abb. 9: Konzentrationen der neutrophilen Granulozyten bei den nicht immunisierten Tieren (— Feldtiere, — Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

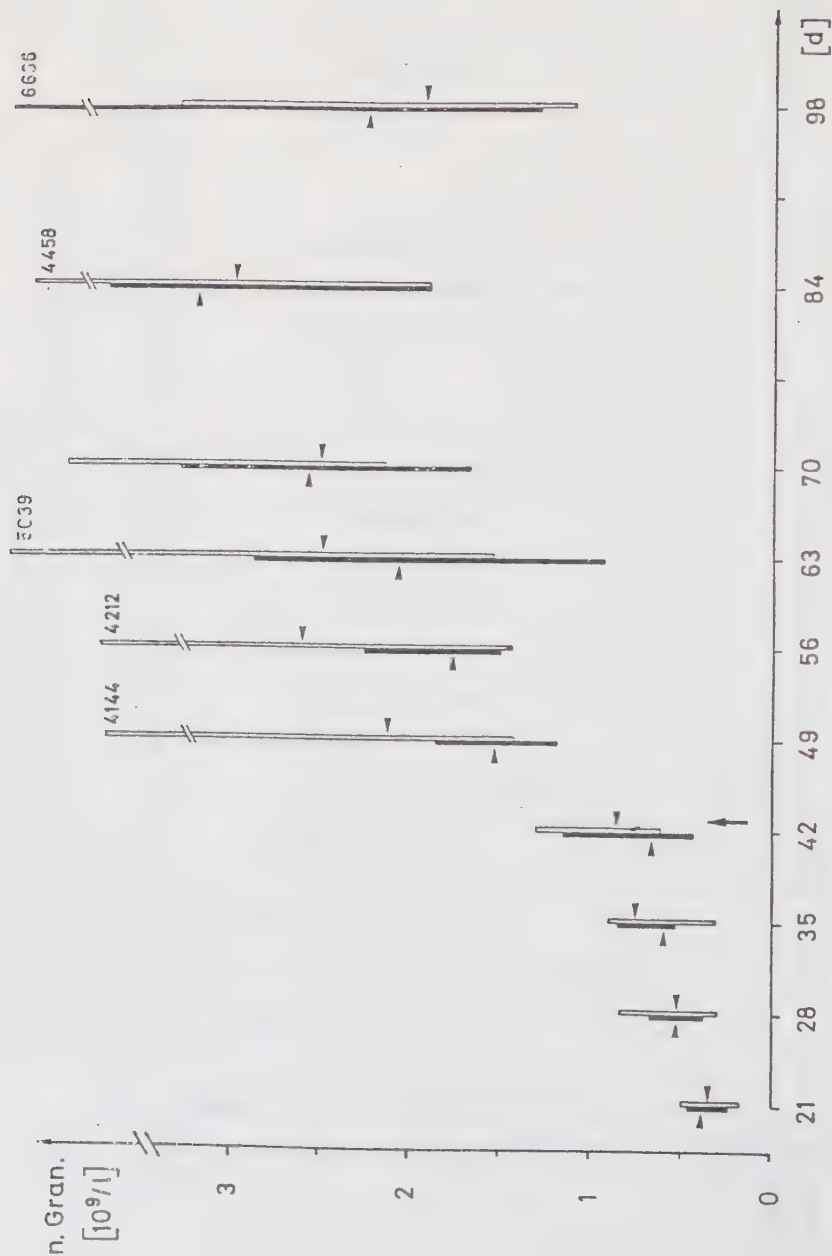


Abb. 10: Konzentrationen der neutrophilen Granulozyten bei den immunisierten Tieren (■ Feldtiere, □ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte, ↓ Immunisierung)

4.1.3. Varianzanalyse des weißen Blutbildes

Zum Vergleich der Effekte von Feldeinfluß und Immunisierung wurden für den 21., 42., 49. und 70. Tag Varianzanalysen nach folgendem Modell durchgeführt: $y(I,J) = T(I) + B(J) + TB(IJ) + E..$ Hierbei bedeutet T: Exposition (Feld/Nichtfeld), B: Immunisierung und TB: Wechselwirkung beider Einflüsse.

In dieser zweifaktoriellen Analyse wurden im Hinblick auf ihre möglichen Effekte die arithmetischen Mittelwerte der Zellzahlen für die Behandlungen T und B miteinander verglichen. Außerdem wurde beim Test auf signifikante Wirkungen geprüft, ob sich die Feldexposition bei immunisierten Tieren und nicht immunisierten Tieren unterschiedlich auswirkt. Im einzelnen ergaben sich folgende Signifikanzlevel, wobei $p \leq 0,005$ eine Signifikanz und $p \leq 0,05$ eine Tendenz darstellt.

Tab. 5: Signifikanzlevel der Varianzanalyse des weißen Blutbildes

	21.	42.	49.	70.
Leukozyten:				
Feldeffekte	0,403	0,000	0,000	0,100
Immunisierungseffekte	0,267	0,877	0,000	0,003
Wechselwirkung	0,614	0,335	0,213	0,917
Lymphozyten:				
Feldeffekte	0,216	0,000	0,003	0,070
Immunisierungseffekte	0,356	0,937	0,001	0,562
Wechselwirkung	0,997	0,338	0,544	0,953
neutrophile Granulozyten:				
Feldeffekte	0,431	0,042	0,008	0,571
Immunisierungseffekte	0,361	0,176	0,000	0,000
Wechselwirkung	0,467	0,925	0,042	0,905

Dieser Analyse läßt sich entnehmen, daß am 42. und 49. Tag überall Feldeffekte, inmitten der Anstiegsphase, vorhanden sind. Immunisierungseffekte sind bei Leukozyten und neutrophilen Granulozyten an den beiden Stichtagen post applicationem (49. und 70. Tag) zu sehen, bei den Lymphozyten lediglich am 1. Stichtag p.a.. Eine unterschiedliche Wirkung der Feldbelastung auf immunisierte und nicht immunisierte Tiere hat sich bis auf einen tendenziellen Effekt bei den neutrophilen Granulozyten am 1. Stichtag p.a. nicht ergeben.

4.1.4. Gesamteiweiß, Immunglobuline und andere Proteinfraktionen

Die Konzentration des Gesamteiweißes im Serum (Tab. 6) zeigt bei allen Tieren einen zunächst ansteigenden Verlauf mit einem Höhepunkt am 63. Tag. Am 84. und 112. Tag sind wieder etwas geringere Konzentrationen zu beobachten. In den Phasen des Anstiegs und Abstiegs der Eiweißkonzentrationen (42., 56., 63., 84. Tag) lagen die Medianwerte der nicht immunisierten Feldtiere regelmäßig unter denen der Kontrollen. Die Konzentrationen der Serumproteine (Medianwerte) liegen bei den nicht immunisierten Tieren zwischen 50 und 77 g/l. Dabei zeigte sich im allgemeinen ein Anstieg bis zum 63. Lebenstag und danach wieder ein gewisser Rückgang, der am 112. Tag allerdings durch die veränderte Blutentnahmetechnik (Entbluten aus den Schwanzgefäßen) beeinflusst worden sein könnte.

In der Gruppe der Tiere, die am 43. Tag immunisiert worden sind, lagen die Serumproteinkonzentrationen ungefähr im gleichen Bereich und wiesen ebenfalls einen periodischen Anstieg und Wiederabfall auf. Anders als bei der o.g. Gruppe wiesen hier jedoch die Feldtiere keinen systematischen Minderbetrag auf.

Die im Phoretogramm mit der Zahl 13 bezeichnete Fläche haben wir als den wesentlichen Bestandteil der IgG-Fraktion angesehen (Abb. 12 und Abb. 13). Ihre Konzentration betrug anfänglich (21. Tag) ca. 2,5 g/l und zeigte dann den für Ratten in diesem Lebensabschnitt charakteristischen Abfall (in unseren Versuchen auf 0,5 g/l am 42. Tag). Danach kommt es bei den nicht immunisierten Tieren zu einem Anstieg mit einem Höhepunkt am 63. Tag (etwa 3 g/l). Im weiteren Verlauf sinken die Werte bis zum 112. Tag wieder etwas ab auf ca. 2,5 g/l. Die Medianwerte der Feldtiere liegen in der Anstiegsphase etwas unter denen der Kontrollen.

Bei den immunisierten Tieren ist der Anstieg am 56. und 63. Tag sehr viel stärker und erreicht Werte bis zu etwa 4,5 g/l. Am Ende des Versuchs weisen Feld-, wie auch Kontrolltiere Konzentrationen von ca. 3 g/l auf.

In der gedehnten Elektrophorese (Abb. 14 und Abb. 15) zeigen sich ähnliche Verhältnisse mit einem Absinken der Werte von etwa 200 Ie (Integratoreinheiten) am 21. Tag bis auf 50 Ie am 42. Tag. Der darauffolgende Anstieg erscheint bei dieser Methode weniger steil als in der Normalelektrophorese. Er erreicht am 63. Tag bei den immunisierten Ratten Werte von ca. 300 Ie. Die Medianwerte gehen bei den nicht immunisierten Tieren am 112. Tag auf etwa 180 Ie, bei den immunisierten Tieren auf etwa 220 Ie zurück. Die Unterschiede zwischen Feld- und Kontrolltieren der beiden Gruppen erscheinen geringer als in der Normalelektrophorese.

Bei der Auswertung der Phoretogramme sind wir so vorgegangen, daß wir im Beta-Globulinbereich die Fraktionen 3,4 und 5,6,7 sowie 9,9a,10,11 zusammengefaßt haben. Diese Zusammenfassung erschien uns als sinnvoll, da einerseits eine differenziertere Auswertung zu größeren Ungenauigkeiten geführt hätte, andererseits die von uns erwünschte Kontrollfunktion dieser Fraktionen dadurch nicht beeinträchtigt wurde.

Im Beta-Bereich (Fraktionen 3-11; Tab. 8-11) liegen die Medianwerte der Feldtiere in der Tendenz etwas unter denen der Kontrollen. Im Alpha-Bereich (Fraktionen 1,2; Tab. 7) ergaben sich keine Unterschiede.

Tab. 6: Gesamteiweiß

Lebenstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere (43.Tag)	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	48,3- <u>51,5</u> -56,1	42,0- <u>50,1</u> -58,2	50,8- <u>53,7</u> -65,3	47,1- <u>51,4</u> -54,6
42	43,6- <u>49,0</u> -52,7	47,9- <u>51,5</u> -54,0	44,5- <u>51,8</u> -56,4	46,7- <u>49,3</u> -53,7
56	61,1- <u>67,1</u> -77,0	64,9- <u>75,0</u> -83,2	61,8- <u>69,5</u> -86,6	71,6- <u>73,3</u> -77,7
63	60,7- <u>67,1</u> -79,8	68,5- <u>77,2</u> -79,1	71,0- <u>79,8</u> -96,7	69,2- <u>72,0</u> -91,1
84	59,0- <u>64,7</u> -67,8	63,2- <u>67,5</u> -70,7	62,4- <u>67,8</u> -82,7	62,4- <u>69,6</u> -71,7
112	54,6- <u>59,9</u> -63,7	52,9- <u>56,9</u> -60,3	55,9- <u>60,7</u> -63,1	52,9- <u>56,6</u> -59,7

Werte in g/l (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert)

Tab. 7: Fraktion 1 und 2

Lebenstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	30,6-33,0-33,4	26,5- <u>31,3</u> -33,3	31,2- <u>33,3</u> -40,4	28,4- <u>31,5</u> -36,0
42	25,6-29,8-34,6	27,8- <u>31,0</u> -31,7	26,7- <u>31,5</u> -34,8	27,9- <u>28,4</u> -33,7
56	35,3- <u>37,1</u> -45,1	37,4- <u>41,7</u> -45,6	37,4- <u>39,2</u> -46,8	37,1- <u>40,9</u> -44,4
63	33,9- <u>39,0</u> -46,1	37,3- <u>40,3</u> -44,7	36,6- <u>44,2</u> -57,1	35,1- <u>41,6</u> -48,9
84	34,3- <u>36,7</u> -38,4	34,7- <u>36,6</u> -42,3	31,2- <u>36,1</u> -41,2	33,8- <u>37,5</u> -38,5
112	31,1- <u>34,3</u> -38,4	31,4- <u>33,5</u> -34,8	32,0- <u>34,1</u> -36,0	30,6- <u>32,5</u> -35,8

Werte in g/l (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert)

Tab. 8: Fraktion 3,4,5

Lebenstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	3,3- 4,6 - 5,7	3,1- 3,7 - 4,8	3,9- 5,0 - 6,2	3,5- 4,6 - 5,5
42	5,9- 6,6 - 8,5	6,4- 8,5 - 9,7	6,3- 7,7 - 9,1	6,2- 7,6 - 9,9
56	10,5- 11,8 - 16,1	11,3- 13,5 - 15,9	9,3- 12,4 - 16,1	9,7- 12,2 - 15,8
63	10,5- 11,4 - 14,0	10,4- 14,8 - 16,1	13,3- 14,6 - 16,9	9,7- 12,2 - 15,8
84	9,7- 11,3 - 12,6	11,5- 12,1 - 13,1	11,7- 12,4 - 15,0	10,4- 11,8 - 13,2
112	8,7- 10,2 - 11,1	8,2- 9,7 - 10,3	8,8- 9,5 - 10,1	8,3- 9,3 - 10,4

Werte in g/l (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert)

Tab. 9: Fraktion 6 und 7

Lebensstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	1,5- <u>2,1</u>	2,9	1,7- <u>2,1</u>	2,2
42	2,0- <u>2,7</u>	3,2	2,6- <u>2,7</u>	3,1
56	2,8- <u>3,2</u>	3,9	2,6- <u>3,3</u>	4,1
63	2,5- <u>3,4</u>	4,6	2,5- <u>3,6</u>	4,6
84	2,5- <u>3,1</u>	3,9	2,5- <u>3,3</u>	3,6
112	2,2- <u>2,2</u>	2,7	2,0- <u>2,5</u>	2,7

Werte in g/l (Minimalwert - Medianwert - Maximalwert)

Tab. 10: Fraktion 8

Lebenstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere (43.Tag)	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	1,4- <u>1,6</u> - 2,0	1,1- <u>1,7</u> - 2,0	1,2- <u>2,0</u> - 2,8	1,2- <u>1,7</u> - 2,8
42	1,4- <u>1,7</u> - 2,1	1,5- <u>1,7</u> - 2,2	1,6- <u>2,0</u> - 2,2	1,2- <u>1,6</u> - 2,2
56	1,7- <u>2,7</u> - 3,5	2,5- <u>2,9</u> - 4,0	1,8- <u>3,1</u> - 4,4	3,1- <u>3,3</u> - 4,1
63	1,9- <u>2,9</u> - 3,5	2,6- <u>3,7</u> - 4,5	2,7- <u>3,4</u> - 3,7	2,9- <u>3,9</u> - 4,3
84	2,3- <u>3,0</u> - 3,4	3,0- <u>3,2</u> - 3,5	3,1- <u>3,5</u> - 4,2	3,0- <u>3,3</u> - 3,8
112	2,2- <u>2,8</u> - 3,1	2,5- <u>2,7</u> - 2,9	2,7- <u>3,0</u> - 3,7	2,2- <u>2,7</u> - 2,9

Werte in g/l (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert)

Tab. 11: Fraktion 9, 9a, 10, 11

Lebenstag	nicht immunisierte Tiere		immunisierte Tiere	
	Feldtiere	Kontrolltiere	Feldtiere	Kontrolltiere
21	5,8- <u>6,8</u>	4,7- <u>5,7</u>	6,1- <u>6,9</u>	5,9- <u>6,8</u>
42	4,6- <u>5,5</u>	5,2- <u>5,8</u>	5,4- <u>5,7</u>	5,0- <u>6,1</u>
56	4,8- <u>6,3</u>	5,3- <u>6,7</u>	5,6- <u>6,5</u>	6,8- <u>7,9</u>
63	5,1- <u>6,3</u>	6,3- <u>7,1</u>	6,7- <u>7,9</u>	6,6- <u>6,9</u>
84	5,0- <u>6,3</u>	5,5- <u>6,2</u>	6,1- <u>7,3</u>	5,4- <u>6,6</u>
112	4,8- <u>5,5</u>	4,9- <u>5,7</u>	5,4- <u>6,0</u>	5,1- <u>5,6</u>

Werte in g/l (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert.)

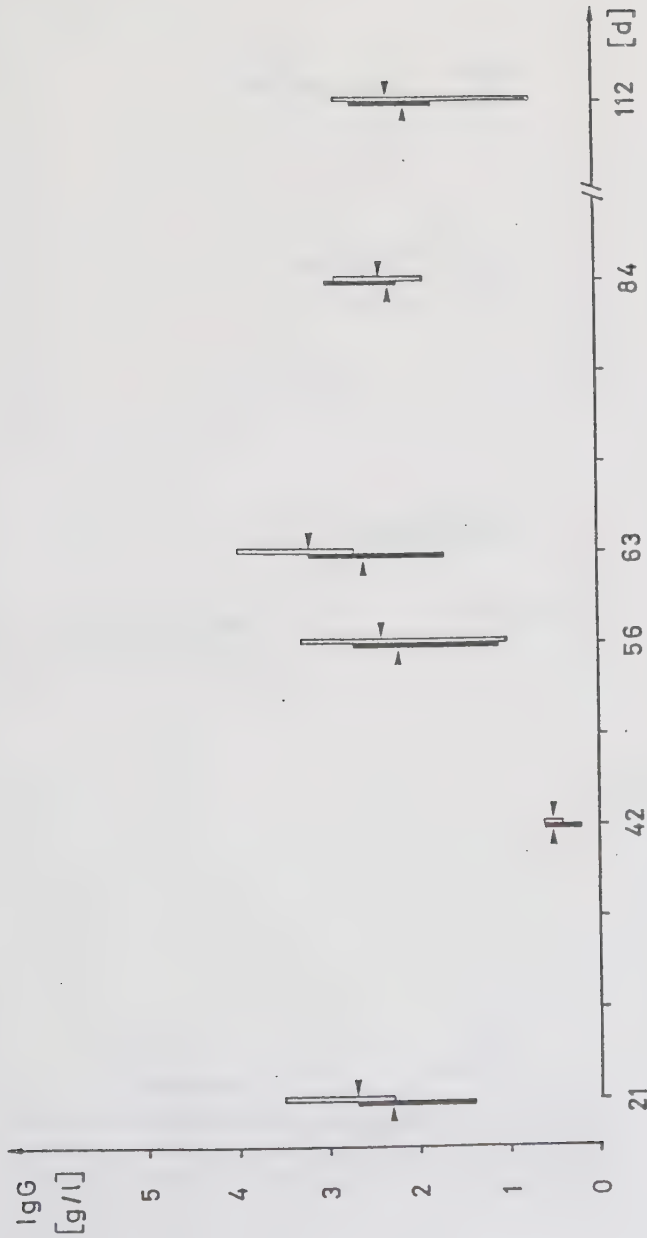


Abb. 11: IgG-Konzentrationen der nicht immunisierten Tiere (Fraktion 13)
(■) Feldtiere, (□) Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

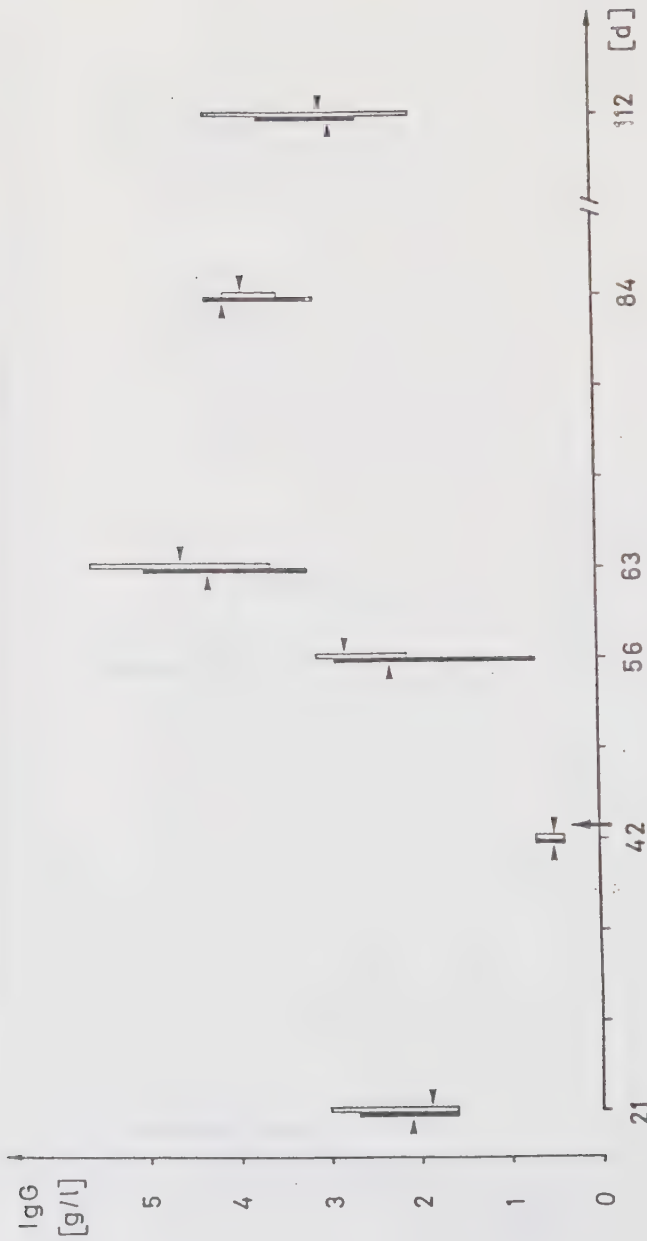


Abb. 12: IgG-Konzentrationen der immunisierten Tiere (Fraktion 13)
(■ Feldtiere, □ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

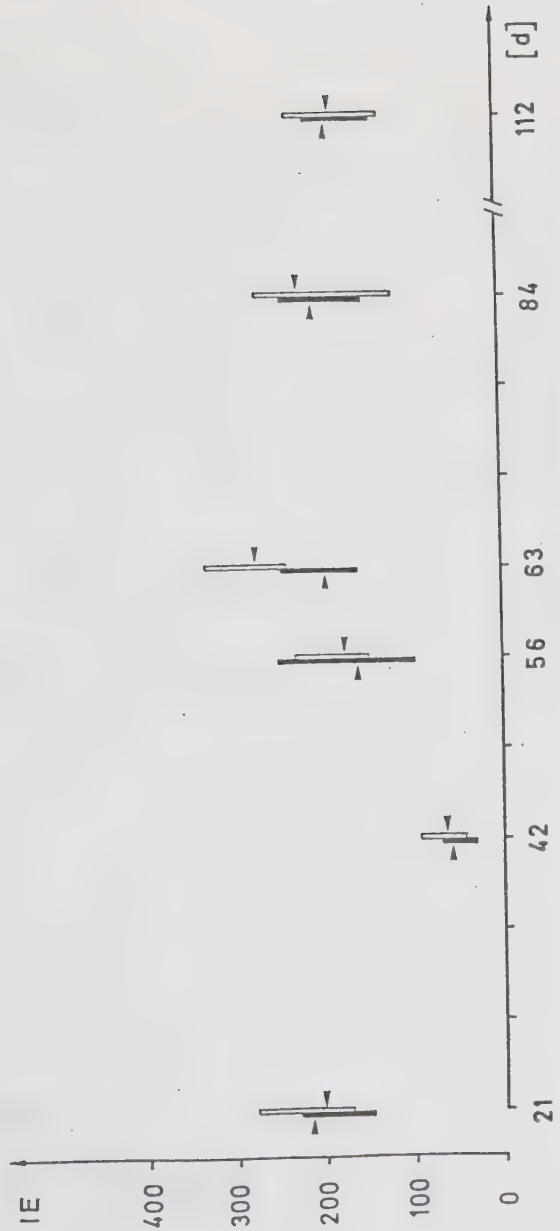


Abb. 13: IgG-Konzentrationen der nicht immunisierten Tiere (gedehnte Elektrophorese)
(□ Feldtiere, ■ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

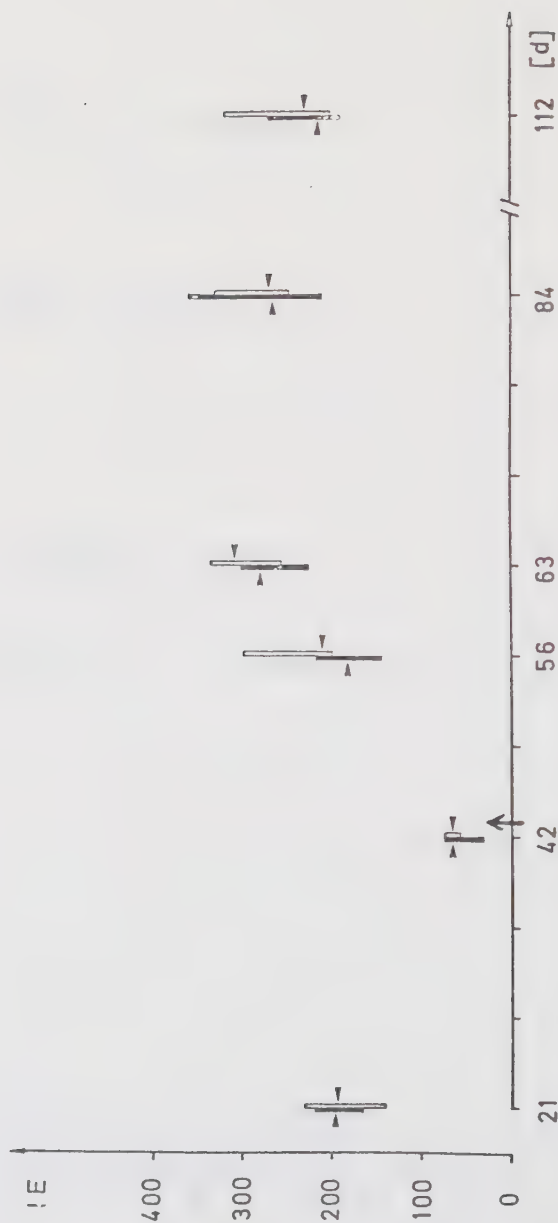


Abb. 14: IgG-Konzentrationen der immunisierten Tiere (gedehnte Elektrophorese)
($\square$ Feldtiere, $\blacksquare$ Kontrolltiere, $\blacktriangleright$ Medianwerte, $\blacktriangleup$ Immunisierung)

4.1.5. Weitere Untersuchungen

Betrachtet man die Gewichtszunahmen der Tiere, so zeigt sich, daß diese in beiden Gruppen regelmäßig verläuft und sich keine Unterschiede zwischen Feld- und Kontrolltieren ergeben (Abb. 16 und Abb. 17). Es ist allerdings auffallend, daß die Feldtiere fast durchgehend eine größere Streuung aufweisen.

Bei der Organuntersuchung wiesen Leber, Milz und Thymus keine pathologischen Veränderungen auf. Ein Vergleich der Organgewichte zeigte keine derartigen Unterschiede, daß man von Unter- bzw. Überentwicklung der Organe in einer Gruppe sprechen könnte (Tab. 12). Interessant scheint hier nur, daß auch hier die Werte der Feldtiere unter denen der Kontrolltiere liegen.

Das Knochenmark in der H_E -Färbung zeigt knochenmarktypische Strukturen ohne Unterschiede in der Zelldichte. In der Giemsa-Färbung war eine Differenzierung der Zellarten leider nur bei etwa der Hälfte der Schnitte möglich. Hierbei traten aber ebenfalls keine Unterschiede zutage.

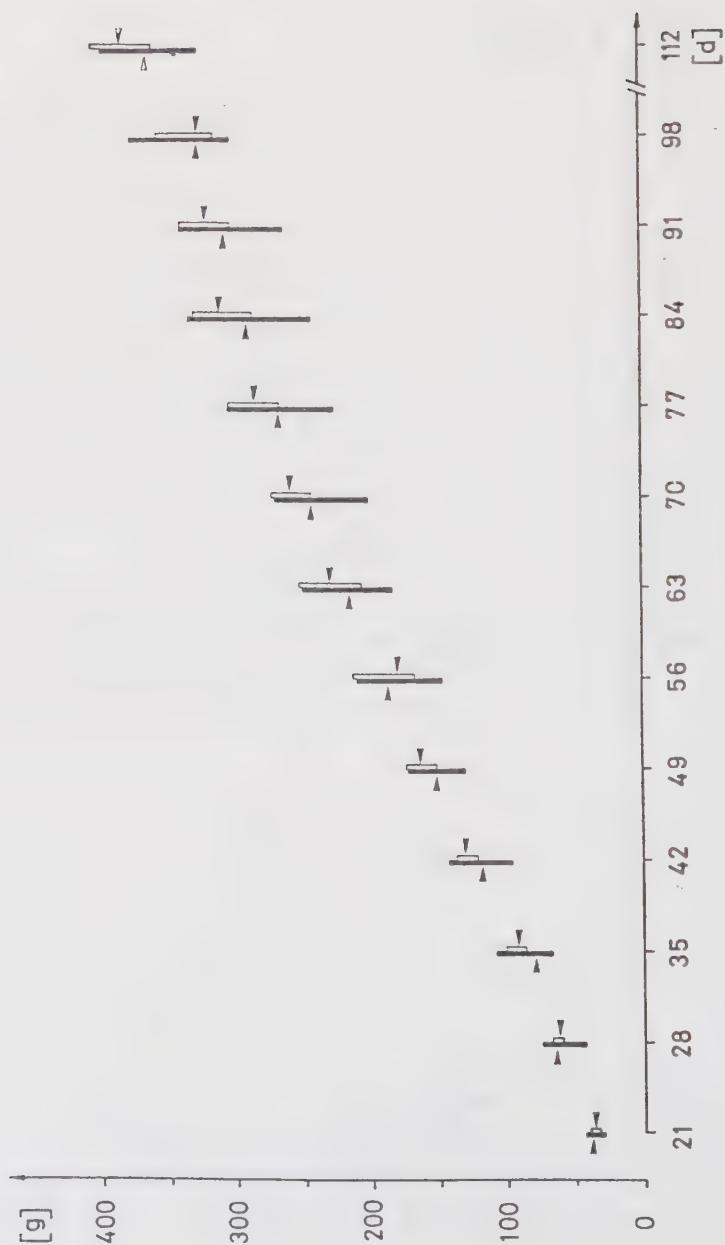


Abb. 15: Körpergewichte der nicht immunisierten Tiere
(■ Feldtiere, □ Kontrolltiere, ▲ Medianwerte)

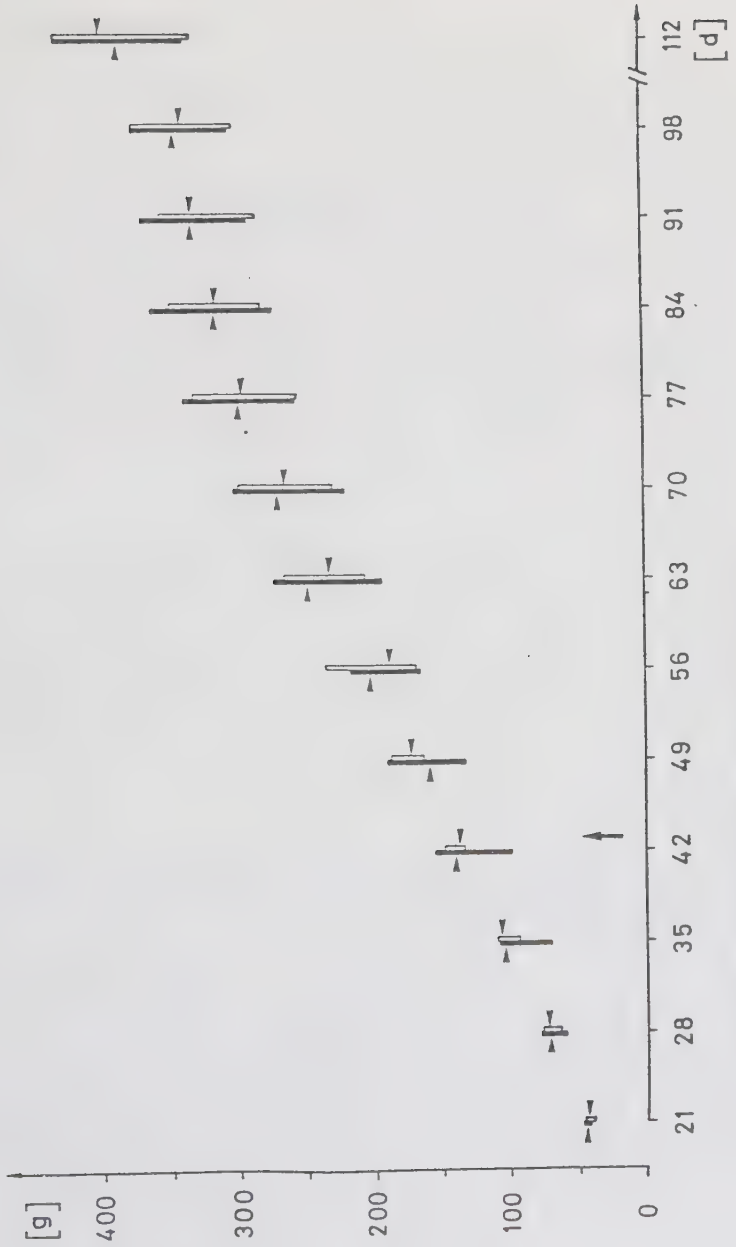


Abb. 16: Körpergewichte der immunisierten Tiere
(Feldtiere, Kontrolltiere, Medianwerte, Immunisierung)

Tab. 12: Organgewichte (g)

	nicht immunisierte Tiere					
	Feldtiere			Kontrolltiere		
Leber	12,52-	<u>13,75</u>	-16,45	13,64-	<u>15,21</u>	-16,70
Milz	0,78-	<u>0,85</u>	- 1,01	0,94-	<u>0,98</u>	- 1,11
Thymus	0,22-	<u>0,29</u>	- 0,34	0,28-	<u>0,34</u>	- 0,39

	immunisierte Tiere					
	Feldtiere			Kontrolltiere		
Leber	14,22-	<u>14,83</u>	-18,09	11,44-	<u>15,36</u>	-16,83
Milz	0,87-	<u>0,98</u>	- 1,11	0,82-	<u>1,04</u>	- 1,20
Thymus	0,27-	<u>0,32</u>	- 0,44	0,29-	<u>0,42</u>	- 0,54

Werte in g (Minimalwert- Medianwert -Maximalwert)

5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, Einblicke in das Verhalten einiger Parameter des humoralen und zellulären Abwehrsystems von Ratten während der ersten drei Lebensmonate unter der Einwirkung hoher elektrischer Wechselfelder zu gewinnen. Veranlassung dazu waren die von BRINKMANN, BAYER und WITKE (1) an Ratten beobachtete "Leukopenie" nach zehnmonatiger Feldexposition, so wie widersprüchliche Befunde anderer Autoren.

Aus den am hiesigen Institut durchgeführten Experimenten ergab sich, daß das Wachstum der eingesetzten (sechs Wochen alten) Ratten ungestört verlief und auch die Aktivitätsperiodik der feldexponierten Tiere sich nicht von jener der Kontrolltiere unterschied. Die metabolischen Prozesse und ihre endokrinen Stellgrößen schienen vom elektrischen Wechselfeld ebenso unbeeinflußt zu sein wie die endogenen Zeitgeber der Spontanmotorik. Das bestätigte die Ausgangshypothese, daß mit direkten Auswirkungen selbst hoher elektrischer Wechselfelder auf physiologische Prozesse im Inneren des Körpers aus theoretischen Gründen nicht zu rechnen sei. Die andererseits beobachteten Veränderungen der Formen motorischen Verhaltens und das Verlassen der unter Feldeinfluß geratenen Nistplätze in den Präferenzversuchen mußten deshalb als "Außenwirkung" interpretiert werden in dem Sinne, daß Spitzenentladungen beim Aufrichten des Körpers so wie Haarvibrationen auf Rezeptoren der Haut wirkten und somit eine Feldempfindung mit Rückwirkungen auf das Bewegungsverhalten erzeugten.

Die nachfolgenden Experimente von BOOTZ (30) bzw. BOOTZ, WITKE, BAYER und BRINKMANN (30a) am bebrüteten Hühnerei, einem Modell also, daß zwar hochkomplizierte Wachstums- und Differenzierungsprozesse umschloß, aber keine sensorische Oberfläche besaß, zeigten wiederum, daß "Binnenwirkungen"

des elektrischen Feldes (etwa in Form von Mißbildungen) nicht zustande kamen. Bei den im Feld erbrüteten und aufgezogenen Tieren fielen jedoch nach ungestörtem Wachstum Verhaltensweisen auf, die auf eine indirekte Einwirkung des Feldes über sensorische Afferenzen mit Rückwirkungen auf das endokrine System schließen ließen. Die Hennen legten kleinere Eier als die Kontrolltiere. Außerdem zeigten sie eine Art "Scheinbrütigkeit" (Festsitzen auf Eiern ohne Sistieren der eigenen Legetätigkeit) und die Hähne eine gesteigerte Aggressivität, beides Verhaltensweisen, wie sie bei den scheinexponierten Tieren im Nullfeld nicht zu beobachten waren. Alle diese Befunde wurden als durch Daueraufenthalt im Feld über kutane Rezeptoren vermittelte Belastungssymptome gedeutet.

Die im Brinkmann-Versuch aufgefallene "Leukopenie" der feldexponierten Ratten konnte nach diesen Erfahrungen nicht als direkter Eingriff in die Leukopoese aufgefaßt werden. Vielmehr mußte auch hier an indirekte Wirkungsfaktoren gedacht werden, die unterschiedlicher Art sein und entweder einzeln oder kombiniert wirken könnten. Verschiedentlich ist eine Hemmung der Vermehrungsrate von Bakterien in elektrischen Feldern beobachtet worden. Sollte dieses Moment in den Versuchen eine Rolle gespielt haben, so hätten die feldexponierten Ratten in einem relativ keimarmen Milieu gelebt, so daß die Entwicklungskapazität der zellulären Abwehr in entsprechend geringerem Maße herausgefordert worden wäre. Eine Adaptation des Immunpotentials an den Antigendruck des Milieus ist, soweit es sich in der Anzahl im Blut zirkulierender Leukozyten ausdrückt, an Ratten bei keimfreier, SPF- und konventioneller Aufzucht anderwärts schon beobachtet worden (46,49). Auch BOOTZ neigte dazu, die im Vergleich zu den Kontrollen geringere Mortalität seiner im Feld aufgezogenen Küken auf eine hygienisch vorteilhafte Umgebung zurückzu-

führen. Auf der anderen Seite muß an den Belastungseffekt einer dauernden Feldempfindung gedacht werden, die über Vernetzungen des neuralen mit dem endokrinen Informationssystem ebenfalls Rückwirkungen auf das von beiden Signalkomponenten abhängige Immunsystem zeitigen könnte.

In Bezug auf den letztgenannten Mechanismus wäre auf zahlreiche Befunde zu verweisen, welche den in der Regel inhibitorischen Einfluß von Belastungen unterschiedlicher Art auf immunologische und reparative Prozesse im Organismus belegen. So berichten L.W. SMITH, MOLOMUT und GOTTFRIED (61) über mehrere Beobachtungen verzögerter Wundheilung bei audiogener Belastung. In einer speziellen Untersuchung der entzündlichen Reaktion auf subcutane Injektion von Terpentin an zuvor schallbelasteten Mäusen haben sie sowohl eine Hemmung der inflammatorischen Antwort als auch der Gewebeorganisation durch verzögerte Proliferation von Fibroblasten gesehen. Obwohl es aus ihren Befunden nicht unmittelbar hervorgeht, schließen die Autoren im Hinblick auf die antiphlogistische Wirkung von Corticosteroiden eine belastungsbedingte Beteiligung der Nebennierenrinde an diesen Effekten nicht aus.

ANKRAUT, SOLOMON und H. KRAEMER (62) haben bei männlichen Fischer-Ratten rheumatische Arthritis mit Hilfe eines Adjuvans induziert (1mg Mycobacterium butyricum in 0,1 ml Mineralöl-Bayol F an der Schwanzwurzel injiziert) und u.a. gefunden, daß hohe Besatzdichte in den Käfigen die Entwicklung der Krankheit in erheblichem Maße zu intensivieren vermochte. Dabei ergaben Serumelektrophorese und Bestimmung der Corticosteroide keine signifikanten Unterschiede zwischen belasteten und unbelasteten Tieren, so daß in diesem Falle an vornehmlich nervöse Wirkungskomponenten zu denken war.

EDWARDS, RAHE, Patricia STEPHENS und HENRY (63) haben isoliert aufgezogene männliche Mäuse im Alter von 16 Wochen mit bovinem Serumalbumin in Freudschem Adjuvans immunisiert und sodann zusammen mit weiblichen Tieren in Gruppenkäfige verbracht, in denen sie nunmehr kompetitiven Interaktionen ausgesetzt waren. Nach einer Woche erfolgte eine Booster-Injektion. Nach zwei Wochen wurden bei den umgesetzten Mäusen signifikant niedrigere Antikörpertiter im Vergleich zu Kontrollen gefunden, die in Isolation verblieben waren.

An einer immunsuppressiven Wirkung negativ belastender Faktoren ("Stressoren") gibt es keinen Zweifel mehr. Dabei spielen Milieufaktoren, d.h. Reize aus der unmittelbaren Umgebung des Tieres eine besondere Rolle, die über sensorische Bahnen archaische Strukturen des limbischen Systems und des Zwischenhirns aktivieren und auf diese Weise emotionale Zustände erzeugen, die nach menschlicher Erlebnisanalogie als negativ geladene Affektionen oder in voller Ausprägung als Angst, Wut oder Bedrückung empfunden werden. Als die Immunkompetenz beeinflussende Faktoren sind bisher insbesondere bei Laboratoriumstieren Populationsdichte, Lärm und Manipulation des Einzeltieres ("handling") bekannt geworden. Als Verbindungsglieder zwischen situativem Druck der Außenwelt und körperinternem Abwehrsystem wird dabei eine neuroendokrine Verknüpfung angenommen, die über das Wirkungsgefüge der Hypothalamo-hypophyseu-adrenalen Achse verläuft.

In dieser Steuerkette kommt bei den Nagetieren dem Corticosteron eine Schlüsselrolle zu. Steigt seine Konzentration im Plasma zu stark an, so kommt es zu einer Abnahme der im Blutstrom zirkulierenden Lymphozyten, zu einer Thymusinvolution, zu einer Abnahme der Milz- und Lymphkno-

tenmasse, im Ganzen also zu einer Depression der zellvermittelten Immunität (64). Wahrscheinlich wirken die glucocorticoiden Hormone durch Einfluß auf einen Wachstumsfaktor der T-Zellen, so daß es schließlich zu einer Hemmung der klonalen Ausbreitung aktivierter T-Zellen kommt (65). Andererseits wird mit hormonalen Rückkopplungsgliedern in Gestalt von Lymphokinen oder Monokinen gerechnet, so daß der Organismus über eine Autoregulation seines Immunsystems verfügt, die der Regulation anderer Funktionsgrößen (Kerntemperatur, Blutdruck, Erythrozytenzahl usw.) vergleichbar ist.

Auf der hypothalamischen Ebene der Verknüpfung neuraler mit hormonalen Signalen können externe Einflüsse sozusagen mit "inadäquaten Reizen" in solch einen Regelmechanismus eingreifen. Auf diese Weise wäre es auch möglich, die Reaktionsfähigkeit des körpereigenen Abwehrsystems auf seine "adäquaten Reize", das heißt auf körperfremde Stoffe, auf Antigene bzw. Immunogene abzuändern.

Als erster hat H. SELYE (66) auf die Reaktion endokriner und immunkompetenter Organe auf eine Reihe äußerer "Stressoren" hingewiesen. Wenngleich nicht zu erwarten ist, daß das triphasische Schema des "Allgemeinen Adaptations-Syndroms" (Alarmreaktion, Widerstands- und Erschöpfungsphase) auf jede Art und Intensität von Belastung paßt, so ist seine Formulierung doch von großem heuristischem Wert gewesen (67).

In den folgenden Jahrzehnten sind dann immer mehr Befunde zusammengetragen worden, die den Zusammenhang zwischen endokrinem und immunologischem System einerseits und zwischen diesen beiden und dem Nervensystem andererseits verdeutlicht haben. Daraus ergibt sich, daß die Reizkonstellation, der ein Organismus in seinem Umfeld ausgesetzt ist, Rückwirkungen sowohl auf seine Befindlichkeit als auch auf seine Widerstandsfähigkeit haben kann.

Da Säugetiere über Sinnesrezeptoren mit spezifischer Empfindlichkeit für elektrische Energie nicht verfügen, kann das elektrische Wechselfeld, in dem unsere Ratten sich befanden, ihr Sensorium nur indirekt beeinflußt haben. Als Angriffspunkte kommen hier in erster Linie Berührungs- und Vibrationsrezeptoren in Betracht. Auf diesem Wege können elektrische Wechselfelder, wie wir aus früheren Versuchen wissen, empfunden werden. Die Empfindungsschwelle war bei der von uns gewählten Feldstärke mit Sicherheit überschritten. Sollte das elektrische Wechselfeld unter diesen Bedingungen als Belastung empfunden worden sein, so müßte sie, gemessen an einer möglichen immunsuppressiven Wirkung, wesentlich geringer gewesen sein als in jenen Versuchen, in denen situative Reize (Schall, Besatzdichte, "handling") einen solchen Effekt in aller Deutlichkeit hervorgebracht haben.

Ein solcher Schluß ist dennoch nur mit Vorsicht zu ziehen, weil an die Möglichkeit gedacht werden muß, daß durch äußere Belastungen im Organismus kompensatorische und adaptive Prozesse ausgelöst werden können. Wir wissen heute, daß Lymphozytenmembranen Rezeptoren für eine ganze Reihe von Hormonen besitzen, die immunologische Reaktionen in ganz unterschiedlicher Weise zu beeinflussen vermögen. So wirken beispielsweise Glucocorticoide und die chemisch verwandten Sexogene und Gestagene in dieser Hinsicht suppressiv, während das Wachstumshormon so wie Thyroxin und Insulin begünstigend wirken. Eine Belastungsbedingte und immunsuppressiv wirkende Ausschüttung von Corticosteron hätte also bei unseren jugendlichen Ratten zumindest in den ersten Wochen der Feldexposition durch Somatotropin wenigstens teilweise ausgeglichen werden können.

Des weiteren ist hier der Zeitfaktor in Betracht zu ziehen. Das Immunsystem scheint in der Lage zu sein, eine Suppression infolge akuter Belastung durch Anpassungsvorgänge mit der Zeit überwinden zu können. So berichtet MONJAN (67) über entsprechende Versuche, die er zusammen mit COLLECTOR (68) angestellt hat. Mäuse eines Inzuchtstammes wurden täglich einer intermittierenden Schallbelastung ausgesetzt (115 dB Breitbandgeräusch, von 0 bis 3 Uhr minütlich 5 Sekunden lang). Nach unterschiedlich langen Behandlungsperioden wurden immunologische Reaktionen lymphatischer Zellen in vitro getestet. Dabei ergaben sich Kurz- und Langzeitwirkungen in der Weise, daß es akut zu einer Minderung und chronisch zu einer Steigerung der Reaktionsfähigkeit kam. Die akute Suppression erfolgte gleichlaufend mit einem Anstieg der Corticosteroidspiegel. Die Autoren nehmen an, daß die Anpassung im chronischen Versuch durch eine Vermehrung corticosteroidresistenter Lymphozyten von erhöhter Immunkompetenz zustande kam.

In allen belastenden Situationen, die zu aggressiven oder defensiven Verstimmungen des Individuums führen (fight or flight), kommt es zu einer Aktivierung des Sympathico-adrenal-Systems, das ebenfalls mit immunologischen Prozessen verknüpft ist, wie es z.B. einige Untersuchungsergebnisse von BESEDOVSKY et al. (65) deutlich erkennen lassen. Sowohl nach chirurgischer als auch chemischer (6-Hydroxydopamin) Blockade sympathischer Efferenzen zur Milz und nachfolgender Adrenalektomie kam es zu einer Vermehrung antikörperbildender Zellen als Immunantwort auf einen Antigenreiz (Schäfer erythrozyten). Diese Reaktion konnte nach Gabe von alpha-adrenergen Agonisten wie Methoxamin und Clonidin in starkem Maße gehemmt werden, wobei es sich nicht um zentral ansetzende, sondern um Lymphozyten und akzessorische Wirkungen direkt beeinflussende Faktoren handelte.

In vivo beobachtet man bei immunologischen Reaktionen - anders als in nichtlymphatischen Organen - eine Abnahme des Noradrenalingehaltes von Milzgewebe. Dieser örtliche Rückgang der Sympathicusaktivität vermindert ihren unmittelbar inhibitorischen Einfluß auf immunkompetente Zellen und begünstigt gleichzeitig ihren Eintritt in den Blutkreislauf; denn ein verminderter Sympathicustonus wirkt vasodilatatorisch und fördert so die Durchblutung in der betreffenden Gefäßregion.

Dem Organisationsprinzip des vegetativen Nervensystems entsprechend sind solche Vorgänge nur als Folgen zentraler Steuerungsprozesse denkbar. Tatsächlich sind im Verlauf von Immunantworten Erhöhungen der elektrischen Aktivität ventromedialer Strukturen im Hypothalamus beobachtet worden (65). Sie waren mit einem Rückgang des Noradrenalin-turnovers verbunden, wobei allerdings noch offen ist, ob es eine kausale Verbindung zwischen beiden Vorgängen gibt. Jedenfalls wirken beide sich fördernd auf die Sekretion des Corticotropins (releasing hormone) aus, mit den bekannten Folgen auf die Ausschüttung von ACTH und Glucocorticoiden. Entscheidend ist die Einsicht, daß alle diese Prozesse ausgelöst werden durch Immunantworten auf Antigenreize, die somit einen Regulationsmechanismus in Gang setzen, in den eine Reihe neuroendokriner Stellglieder einbezogen sind. Von erheblicher Bedeutung für die Lösung unseres Problems dürfte sein, daß einige von ihnen wie z.B. die Noradrenalin-konzentrationen in den lymphatischen Geweben sich bei keimfrei gehaltenen und SPF-Ratten quantitativ unterscheiden.

Die erwähnten Beispiele und Überlegungen führen vor Augen, daß das Immunsystem von einer Reihe verschiedener Faktoren beeinflusst werden kann, welche einerseits fördernden,

andererseits hemmenden Charakter haben. Obwohl die einzelnen Funktionsprinzipien derzeit nur im Ansatz erkennbar sind, scheint es doch so zu sein, daß über die Verknüpfung mit anderen Regelungs- und Steuersystemen des Körpers das Immunsystem in die Lage versetzt wird, sich in jeder Lebenssituation so anzupassen, daß Abwehr und Leistungsbereitschaft des gesamten Organismus zweckdienlich aufeinander abgestimmt werden.

In den von uns erhobenen Befunden zeigt sich, daß die einem relativ hohen elektrischen Wechselfeld technischer Frequenz ausgesetzten Tiere über den gesamten Versuchszeitraum geringere Konzentrationen von weißen Blutkörperchen im strömenden Blut aufweisen als die nicht exponierten Tiere. Die in dem untersuchten Lebensabschnitt charakteristischen Zunahmen finden, wenn auch in unterschiedlichem Maße, bei beiden Gruppen statt. Die am Ende des Versuchs von den Kontrolltieren erreichten 12×10^9 Zellen/ l bzw. die 10×10^9 Zellen/ l der exponierten Tiere (Medianwerte), sind für sich betrachtet, als durchaus im "Normbereich" bleibend anzusehen.

Die Konzentrationen der Lymphozyten (10×10^9 Zellen/ l bzw. 8×10^9 Zellen/ l) und die der neutrophilen Granulozyten ($1,5 \times 10^9$ Zellen/ l bzw. $1,25 \times 10^9$ Zellen/ l) sind ebenfalls im zu erwartenden Bereich angetroffen worden. Eosinophile Granulozyten, Monozyten, so wie stabkernige und jugendliche neutrophile Granulozyten waren mit jeweils 0-2% im Gesamtblutbild vertreten. Da sie keine besondere Tendenz zu Veränderungen ihres Anteils erkennen ließen, sind sie bei der Auswertung unberücksichtigt geblieben.

Die von uns am 47. Tag immunisierten Ratten zeigten in der Kontroll- wie auch in der Feldgruppe einen ähnlich starken Anstieg von weißen Blutkörperchen. Dabei reagierten die neutrophilen Granulozyten naturgemäß sehr heftig, die

Lymphozyten etwas weniger sprunghaft. Wir haben es also in Bezug auf das weiße Blutbild mit einer vom Aufenthalt im elektrischen Feld unbeeinträchtigten Immunreaktion zu tun. Die zur Überprüfung dieser Aussage angefertigte Varianzanalyse bestätigt uns den Immunisierungseffekt als auch einen partiellen vorübergehenden Feldeffekt, läßt aber keinen Schluß hinsichtlich einer Wechselwirkung beider Einflußfaktoren zu.

Die Serumelektrophorese wurde in der vorliegenden Untersuchung in erster Linie zur Bestimmung des IgG angewendet, jedoch diente sie auch zur quantitativen Beurteilung der übrigen Serumproteine, die aufgrund ihrer Konzentration wesentlich zur Bildung des Gesamtprofils der Elektrophorese beitragen. Für die quantitative Analyse wurde die Normalelektrophorese unter Bezug auf die Mikrobiuret-Gesamteiweißbestimmung angewendet. Die Konzentration der Gesamtproteine ist für die Feldtiere etwas niedriger als für die Kontrolltiere ausgefallen. Bei Einzeldarstellung von immunisierten und nicht immunisierten Tieren zeigte sich, daß für diese Unterschiede im wesentlichen die nicht immunisierten Tiere verantwortlich sind. Die Fraktion des Albumins (1,2) mit einem Anteil von etwa 60 % am Gesamteiweiß im Serum ist daran außer am 56. Tag nicht beteiligt. Die geringen Unterschiede gehen ansonsten zu Lasten der Fraktionen im beta- und gamma-Bereich (3-13). In dem uns speziell interessierenden Bereich der IgG-Fraktion (13) zeigt sich der für diesen Lebensabschnitt typische Verlauf der Entwicklung, ohne daß gewichtige Unterschiede zwischen Feld- und Kontrolltieren zutage treten. Die Immunisierung drückt sich in den höheren IgG-Konzentrationen der behandelten Tiere aus. Zwar scheinen die Feldtiere auf den Antigenreiz etwas weniger heftig als die Kontrollen zu reagieren, doch sind die Unterschiede zu gering, als daß man ihnen systematische Bedeutung beimessen könnte.

In der gedehnten Elektrophorese, deren Ergebnisse durch den Gesamteiweißwert unbeeinflusst blieben, ist der Immunisierungseffekt ebenfalls zu erkennen. Die Differenzen zwischen Feld- und Kontrolltieren erscheinen aber ähnlich gering wie in der Normalelektrophorese, so daß man von einem Hemmungseffekt auf die Antikörperbildung im elektrischen Feld, wenn überhaupt, dann nur in einem sehr geringen Maße sprechen kann. Gemessen an einer unterstellten immunsuppressiven Wirkung kann also von einer nennenswerten Belastung durch das elektrische Feld nicht gesprochen werden.

Die zur allgemeinen Kontrolle durchgeführten Untersuchungen der Zunahme des Körpergewichts, der Gewichte einzelner Organe und der Zusammensetzung des Knochenmarkes zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen Feld- und Kontrolltieren. Es ist jedoch ein geringes Mindergewicht von Leber, Milz und Thymus der Feldtiere zu beobachten. Diese Tendenz ist auch in den Ergebnissen der Untersuchungen von MORRIS et al. (20) erkennbar.

Insgesamt gesehen zeigt das Immunsystem anhand der von uns untersuchten Parameter eine geringfügige Anpassung an Feldbedingungen, insofern als die Leukozyten und Antikörper im strömenden Blut tendenziell etwas niedrigere Konzentrationen aufweisen. In seiner Funktion, das heißt in der Reaktion auf den von uns gesetzten Antigenreiz zeigt es sich jedoch offensichtlich ungestört.

Wir stehen somit vor der Tatsache, daß Abwehrzellen und Antikörper im Blut von Ratten bei Daueraufenthalt in einem elektrischen Wechselfeld hoher Feldstärke in andeutungsweise geringerer Konzentration auftraten als bei Kontrolltieren, daß aber das Ausmaß der Immunreaktion auf einen Antigenreiz, gemessen am Anstieg beider Parameter, in beiden Gruppen gleich ausfiel. Da die Reaktionsbreite keinen Unterschied aufwies, bleibt nur noch die Frage zu

klären, warum das immunologische Potential, obwohl in beiden Fällen offensichtlich ausreichend, unterschiedliche Ausgangshöhen aufwies, sofern man die Leukozytenkonzentrationen und die IgG-Spiegel im strömenden Blut als Indiz dafür nehmen kann.

Nach dem oben Gesagten könnten sowohl eine Tonisierung des sympathischen Systems als auch eine Erhöhung der Corticosteroidspiegel unter Feldbelastung einzeln oder im Zusammenwirken zu einer Suppression des immunologischen Grundpotentials führen. Auf der anderen Seite zeigen die Beobachtungen von WRIEG (46), die im gleichen Lebensabschnitt wie bei unseren Ratten durchgeführt worden sind, daß die Konzentration von Abwehrzellen im Blut vom Keimgehalt des Milieus abhängt. Keimfrei gehaltene Tiere wiesen niedrigere Leukozytenzahlen als konventionell gehaltene auf, während sie bei SPF-Tieren dazwischen lagen. Verbrachte man die Tiere aus dem keimfreien bzw. dem SPF-Milieu in die konventionelle Haltung, so glichen sich ihre Leukozytenzahlen relativ schnell den sonst hier gefundenen an. Demzufolge sind die niedrigeren Konzentrationen weißer Blutzellen in der keimärmeren bzw. keimfreien Umgebung nicht als Leukopenie im klinischen Sinne, sondern als Anpassung des Immunsystems an einen geringeren Antigendruck gedeutet worden.

Angesichts der Tatsache, daß bakteriostatische Effekte in elektrischen Wechselfeldern beobachtet worden und auch in unserem Falle nicht auszuschließen sind, müssen auch wir mit der Möglichkeit rechnen, daß die tendenziell geringeren Leukozytenzahlen und Antikörperspiegel der Feldtiere auf eine relative Keimarmut des Milieus zurückzuführen sind. Es könnte eine Ursachenkombination von Feldbelastung und Antigendruck oder nur das eine oder andere wirksam gewesen

sein. Welche dieser Interpretationen zutrifft, wird in einer weiteren Untersuchung zu klären sein, welche zum Ziel haben müßte, die Keimbesiedlung der Feldtiere mit jener der Nichtfeldtiere zu vergleichen.

Abschließend kann festgestellt werden, daß Dauereinwirkung elektrischer Wechselfelder der von uns gewählten Feldstärke und Frequenz die im Blut heranwachsender Ratten zirkulierenden Elemente der zellulären und humoralen Abwehr nur geringfügig reduzieren, wobei offen bleibt, ob es sich um einen Belastungseffekt, um eine Minderung des Antigendrucks, um eine Kombination beider Wirkungen oder um eine situative Anpassung des Immunsystems handelt. Die Geringfügigkeit der Differenz zwischen den untersuchten Parametern läßt jedenfalls auf eine entsprechend schwache Wirkung des Feldes schließen. Das Ausmaß der immunologischen Reaktion auf einen Antigenreiz wird unter den gegebenen Bedingungen nicht beeinträchtigt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Entwicklung des Abwehrsystems von Ratten im Alter von 21 Tagen bis zu 3 Monaten unter dem Einfluß eines hohen elektrischen Wechselfeldes technischer Frequenz (100 kV/m, 50 Hz) zu beobachten. Hierzu wurden in regelmäßigen Abständen die Konzentrationen der weißen Blutzellen und des IgG bestimmt. Des weiteren wurde geprüft, ob die Immunantwort auf einen am 43. Lebenstag gesetzten Antigenreiz (Ovalbumin, Freund-sches Adjuvans) einer Beeinflussung durch das Feld unterliegt. Außerdem wurden die Entwicklung der Körpergewichte, Gesamteiweiß und Serumproteinfraktionen, die Gewichte einzelner Organe am Ende des Versuchs, sowie Ausstriche des Knochenmarks untersucht.

Ergebnisse:

1. Bei den Tieren im Feld ergaben sich im Verlauf des Versuchs niedrigere Konzentrationen von weißen Blutzellen als bei den Kontrolltieren (10×10^9 Zellen/ l gegenüber 12×10^9 Zellen/ l). Die geringeren Konzentrationen waren im Differentialblutbild bei allen Zellarten (Granulozyten, Lymphozyten etc.) zu finden. Die immunologische Reaktion auf den Antigenreiz fand indessen bei Feld- und Kontrolltieren im gleichen Ausmaß statt.
2. Die IgG-Konzentrationen der Tiere im Feld waren geringfügig niedriger als die der Kontrolltiere. Die aufgrund des Antigenreizes zu beobachtenden Immunantworten bewegten sich dagegen bei beiden Gruppen im gleichen Rahmen.
3. Die Körpergewichtsentwicklung der Tiere, die Konzentrationen des Gesamteiweißes, der alpha- und beta-Globuline sowie die Ausstriche des Knochenmarkes ließen keine wesentlichen Unterschiede erkennen.

4. Die Gewichte von Leber, Milz und Thymus waren am Ende des Versuchs bei den Feldtieren etwas geringer als bei den Kontrolltieren.

Aus den Ergebnissen läßt sich schließen, daß das Abwehrsystem der Ratte in seiner Funktionsfähigkeit unter den Bedingungen eines elektrischen Wechselfeldes der von uns gewählten Feldstärke und Frequenz ungestört bleibt.

Äußere Feldeinwirkungen haben wahrscheinlich nicht den Charakter von Belastungsfaktoren, die zu Immundepressionen führen könnten. Die tendenziell niedrigeren Ausgangskonzentrationen der Leukozyten und Immunglobuline bei den feldexponierten Tieren sind womöglich auf einen geringeren Antigendruck des Milieus zurückzuführen, da die Vermehrung von Mikroorganismen im elektrischen Feld gehemmt zu werden scheint. Ob dieses Moment in unserem Falle eine ursächliche Rolle gespielt hat, wird in einer weiteren Untersuchung zu klären sein.

7. SUMMARY

This investigation was carried out to observe the development of the immune system of 21 days to 3 months old rats subjected to the influence of an electric alternating field (100 kV/m, 50 Hz). In this context the concentrations of white blood cells and IgG were measured in regular intervals.

Furthermore it was investigated whether the immune reaction to an antigen stimulus (Ovalbumin, Freund's adjuvans) on the 43rd day would be influenced by the electric field. Body and several organ weights were compared; total protein and serumprotein concentrations as well as the bone marrow were examined, too.

Following results have been found:

1. In the course of the experiment exposed animals showed lower concentrations of white blood cells than control animals (10×10^9 cells/ l to 12×10^9 cells/ l). Reduced concentrations could be observed in all kinds of cells of the differential cell count (granulocytes, lymphocytes etc.). Exposed as well as control animals showed no differences in the extent of immune reactions to the antigen stimulus.
2. IgG-concentrations of exposed animals were insignificantly lower than those of the control animals. Also in this case the immune reaction resulting from the antigen stimulus was of the same extent.
3. Body weight development, total protein concentration, alpha- and beta-globulin concentrations as well as the composition of the bone marrow showed no important differences.
4. In the end of the experiment, liver- spleen- and thymus-weights of exposed animals were found to be negligibly lower than those of the control animals.

Considering the results mentioned above we came to the conclusion that, regarding the parameters measured, the immune system of the rat subjected to an electric alternating field of the chosen power and frequency is not disturbed in its function.

External field influences can probably not be considered as straining factors which may lead to immune depressions. The trend towards lower concentrations of total white blood cell count and immune globulin of exposed animals are perhaps due to the lower environmental antigen pressure, since the increase rate of microorganisms seems to be lowered by an electric field. To what extent, however, this momentum played a causal role in this context has to be reserved to further investigations.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bayer A., Brinkmann J., Wittke G.:

Experimentelle Untersuchungen an Ratten zur Frage der Wirkung elektrischer Wechselfelder auf Lebewesen

Elektrizitätswirtschaft, Zeitschrift der Vereinigung deutscher Elektrizitätswerke VDEW
Sonderdruck Nr. 2903 76(1977) H.4 77-81

2. Fischer G.:

Bioklimatische Bedeutung luftelektrischer Faktoren; Situationsbericht

Zentralblatt für Bakteriologie und Mikrobiologie und Hygiene (B) 1974(4), 287-98, 1981

3. Ludwig und Mecke:

Zitiert nach Fischer G. (L. 2)

4. Becker:

Zitiert nach Fischer G. (L. 2)

5. Fischer G., Strampfer H., Riedl H.:

Wirkung eines künstlichen Elektroklimas auf physiologische und psychologische Meßgrößen
Zeitschrift für experimentelle und angewandte Psychologie 24(3), 397-412, 1977

v

6. Kühne B.:

Methoden zur Untersuchung des Einflusses hoher elektrischer 50-Hz-Felder auf den menschlichen Organismus

Dissertation TU Hannover 1979

7. Brinkmann J.:
Die Langzeitwirkung hoher elektrischer Wechselfelder auf Lebewesen am Beispiel frei beweglicher Ratten
Dissertation TU Hannover 1976
8. Silny J.:
Zitiert nach Bootz (L.30)
9. Antoni H., Geddes LA.,:
Zitiert nach Bootz (L.30)
10. Janes de J.R.:
Background information on high voltage fields
Environmental Health Perspectives
20, 141-7, Oct. 1977
11. Pfützner H.:
The standardization of experimental investigations of biological effects of low frequency electric and magnetic fields
International Journal of Biometeorology
23(4), 271-8, Dec. 1979
12. Robertson D., Miller M.W., Cox C., Davis H.T.:
Inhibition and recovery of growth processes in roots of *pisum sativum* L., exposed to 60-Hz electric fields
Bioelectromagnetics 2(4), 329-40, 1981
13. Zimmermann U., Scheurich P.:
Fusion of *avenia sativa* mesophyll cell protoplasts by electrical breakdown
Biochimica et Biophysica Acta 641(1), 160-5, Feb. 1981

14. Ascoli C., Barbi M., Frediani C., Petracchi D.:
Effects of electromagnetic fields on the motion
of *Euglena gracilis*
Biophysical Journal 24(3), 601-12, Dec. 1978
15. Ferris C.D., Griffin J.H.:
Orientation of *Euglena gracilis* by electro-
magnetic Fields; Theory and experiment Magyar
Tudományos Akademia, Acta Biologica 28(4).
375-87, 1977
16. Goodman E.M., Greenebaum B., Marron M.T.:
Bioeffects of extremely low-frequency electro-
magnetic fields.
Variation with intensity, waveform and indi-
vidual or combined electric and magnetic fields
Radiation Research 78(3), 485-501, Jun 1979
17. Greenberg B., Bindokas V.P., Gauger J.R.:
Biological effects of a 765-kV-transmission
line; exposures and thresholds in honeybee
colonie
Bioelectromagnetics 2(4), 315-28, 1981
18. Rosenberg R.S., Duffy P.H., Sacher G.A.:
Effects of intermittent 60-Hz high voltage
electric fields on metabolism, activity and
temperature in mice
Bioelectromagnetics 2(4), 291-303, 1981
19. Mathewson N.S., Oosta G.M., Oliva S.A., Levin
S.G., Diamond S.S.:
Influence of 45-Hz vertical electric fields
on growth, food and water consumption and
blood constituents of rats
Radiation Research 79(3), 468-82, Sep 1979

20. Morris J.E., Ragan H.A.:

Immunological studies with 60-Hz electric fields

In: Hanford life sciences symposium, 18th,
Richland, Washington 1978

Biological effects of extremely low frequency
electromagnetic fields, Springfield, Va:
Technical information centre, U.S. Dept.
of energy 326-34

21. Ragan H.A., Pipes M.J., Kaune W.T., Phillips R.D.:

Clinical pathological evaluations in rats
and mice chronically exposed to 60-Hz electric
fields

In: Hanford life sciences symposium, 18th,
Richland Washington 1978

Biological effects of extremely low frequency
electromagnetic fields, Springfield, Va:
Technical information centre, U.S. Dept. of
energy 297-325

22. Fam W.Z.:

Long-term biological effects of very intense
60-Hz electric field on mice

IEEE Transactions on biomedical engineering
27(7), 376-81, Juli 1980

23. Fischer G., Stünzner W.:

Untersuchungen über den Einfluß eines 50-Hz
Wechselfeldes auf den Immunitätsgrad der Maus
nach chronischer Exponierung

Zentralblatt für Bakteriologie und Mikrobiologie
und Hygiene, Reihe (B) 173, 308-318, 1981

24. Fischer G., Udemann H., Knapp E.:

Übt das netzfrequente Wechselfeld zentrale Wirkungen aus?
Zentralblatt für Bakteriologie und Mikrobiologie und Hygiene, Reihe (B) 166 (4-5), 381-5, 1978

25. Hansson H.A.:

Purkinje nerv cell changes caused by electric fields. Ultrastructural studies on long-term effects on rabbits
Medical biology 59, 103-10, 1981

26. Adey W.R.:

Frequency and power windowing in tissue interactions with weak electromagnetic fields Procedures IEEE 68, 119-25, 1980

27. Jaffe R.A., Laszewski R.L., Caw D.B.:

Chronic exposure to 60-Hz electric field; effects on neuromuscular function in the rat Bioelectromagnetics 2(3), 227-39, 1981

28. Wilson B.W., Anderson L.E., Hilton D.L., Phillips R.D.:

Chronic exposure to 60-Hz electric fields; effects on pineal function in the rat Bioelectromagnetics 2(4), 371-80, 1981

29. Hjerlesen D.L., Kaune W.T., Decker J.R., Phillips R.D.:

Effects of 60-Hz electric fields on avoidance behavior and activity of rats Bioelectromagnetics 1(3), 299-312, 1980

30. Bootz A.:

Legeleistung, Gleichheit und Verhalten von Hühnern und ihrer F_1 -Generation, die in elek-

trischen Wechselfeldern höherer Feldstärken ausgebrütet, aufgezogen und gehalten wurden
Dissertation Nr. 989 FU Berlin 1979

- 30 a. Bootz A., Wittke G., Bayer A. und Brinkmann J.:
Rearing of Chicken from Hatching to the End of the 1st Laying-Period in an Electric Field (30 kV/m, 50 Hz)
European Journal of Physiology (Pflügers Arch.) 377, R 55, 1978 (Suppl.)
31. De Lorge J.O., Grissett J.D.:
Behavioral effects in monkeys exposed to extremely low frequency electromagnetic fields
International journal of biometeorology 21(4), 357-65, Dec 1977
32. Cooper L.J., Graves H.B., Schmith J.C., Poznaniak D., Madjich A.H.:
Behavioral responses of pigeons to high-intensity 60-Hz electric fields
Behavioral neural biology Bd. 32(2), 214-28, 1981
33. Gabovich R.D., Koziarin I.P.:
Vlianie 'elektricheskogo polio nizko'i chas-toty (50Gts) na organizm (effect of a low frequency (50-Hz) electrical field on the body)
Gigiena i sanitarija (1), 11-5, 1979
34. Koziarin I.P.:
Vlianie elektricheskogo polio nizko'i chas-toty (50Gts) na zhivotnyk raznogo vozrasta (effect of a low frequency (50-Hz) electrical field on animals of different ages)
Gigiena i sanitarija (8), 18-9, 1981

35. Tomashevskaya L.A., Dumanski'i IuD:

Izmenie metabolizma v organizme podopytnykh zhivotnykh kak odin iz pokazatelei i biologicheskogo de'istviia EMP chastoty 50 Gts (Metabolic changes in experimental animals as one of the indices of the biological action of 50 Hz electromagnetic fields)

Vrachebnoe Delo (7), 98-100, 1981

36. Kuksinski'i V.E.:

Koagulologicheskie svoi'stva krovi i Tkane'i seredno-sosudisto'i sistemy pri vozde'istvii (Coagulation properties of the blood and tissue of the cardiovascular system exposed to an electromagnetic field)

Kardiologiya 18(3), 107-11, 1978

37. Korobkov V.P., Yu Morozov M.D., Stolarow and Yu A Vakub:

Influence of the electric field in 500- and 750 KV switch yards on maintenance staff and means for its protection

CIGRE-Bericht, 1972 Nr. 23-06

38. Knave B., Gamberale F., Bergström S., Birke E., Jørgen A:

Long-term exposure to electric fields. A cross-sectional epidemiologic investigation of occupationally exposed workers in high-voltage substations

Scandinavian journal of work, environment and health 5(2), 115-25, 1979

39. Dumanski'i IuD, Popovich V.M., Koziarin I.P.:

Vlianie 'elektromagnitnogo polia nizko'i chastoty (50Gts) na funktsional'noe sostoiianie organizma cheloveka (effect of a low-frequency

(50-Hz) electromagnetic field on the functional state of the human body)

Gigiena i sanitarija (12), 32-6, Dec 1977

40. Kle'iner A.I., Getmanets I.I.A., Smolianinova N.S.,
Krylova E.V., Galas' G.S.:
Sostoianie immunologichesko'i Reaktivnosti
organizma pri vozde'istvii nekotorykh vrednykh
proidzvodstvennykh faktorov (Status of immu-
nological reactivity of the organism under
the effect of some noxious industrial factors)
Vracebnoe Delo (3), 98-102, März 1979

41. Kozma, C.K. Weisbroth, S.H. Stratman, S.L. Conejeros, M.:
Normal biological values for Long-Evans-Rats
Laboratory Animal Care 19, 746-755, 1969

42. Schalm O.W., Jani N.C., Carroll E.J.:
Veterinary hematology 3rd Edition, 235-245,
Lea & Febiger 1975

43. Hoffmann und Kersten:
Biologische Normalwerte bei Wistarratten ver-
schiedenen Alters (Jena)
Zeitschrift Versuchstierkunde 8, 227-235, 1966

44. Hebold G., Bleuel H.:
Hämatologische Standardwerte bei der weiblichen
und männlichen Ratte (Sprague-Dawley)
Zeitschrift Versuchstierkunde 13, 316-320, 1971

45. Splinter, Hoffmann:
Biologische Normalwerte bei Wistarratten ver-
schiedenen Alters
Zeitschrift Versuchstierkunde 9, 298-305, 1967

46. Wrieg H.H.:

Hämatologische Parameter von Sprague-Dawley
Ratten in Abhängigkeit von Alter und mikro-
bieller Definition
Dissertation FU Berlin Nr. 938 1978

47. Bazin H., Beckers A., Querinjean:

Three classes and four (sub)classes of rat
immunoglobulin
European journal of immunology Vol.4, 44-48,
1974

48. Gruber F.:

Immunologie der Versuchstiere
Ein Beitrag zur Charakterisierung immuno-
logischer Modelle
Schriftenreihe Versuchstierkunde Verlag
Paul Parey 1975

49. Zillmann U.:

Der Immunglobulin G_{2a} -Spiegel bei Sprague-
Dawley Ratten in Abhängigkeit von Alter und
Haltung
Dissertation FU Berlin 1971

50. Dietzel-Röhl L.:

Immunglobulin- G_{2a} -Spiegel bei SPF-Ratten 1.
Untersuchungen zur Abhängigkeit der IgG-Werte
von der Käfigposition
Zeitschrift Versuchstierkunde 22, 74-79, 1980

51. Rieh B.:

Untersuchung zur Variabilität der Immunglobu-
lin G_{2a} -Spiegel junger SPF-Ratten unter beson-
derer Berücksichtigung der Säuglingsgruppe
Dissertation FU Berlin 1981

52. Dietzel-Röhl L.:
Immunglobulin G_{2a} -Spiegel bei SPF-Ratten 2.
Verteilung und Normbereiche der IgG_{2a} -Werte
als Grundlage einer Qualitätskontrolle des
mikrobiologischen Staus von Versuchstieren
Zeitschrift Versuchstierkunde 22, 141-147, 1980
53. Vos, J.G. Boerkamp J., Buys J., Steerenberg P.A.:
Ovalbumin immunity in the rat: Simultaneous
testing of IgM, IgG und IgE response measured
by ELISA and delayed-type hypersensitivity
Scandinavian journal of immunology 12, 289-
295, 1970
54. Herbert W.J.:
Mineral-oil adjuvants and the immunization
of laboratory animals
Handbook of experimental immunology
Blackwell scientific publications App. 3
55. Cohrs, Jaffe, Miessen:
Pathologie der Laboratoriumstiere Bd. 1,
188-189, 1958
56. Tilgner S., Metzke H.:
Die Blutentnahme aus den Venen der Orbita
Zeitschrift Versuchstierkunde 5, 59-77, 1964
57. Metzke H.:
Zur Technik der Blutentnahme bei kleinen Labo-
ratoriumstieren durch Orbitalpunktion
Zeitschrift Versuchstierkunde 8, 382-384, 1966
58. Wittke G.:
Persönliche Mitteilung

59. Jarofke R., Siegert M., Ballowitz L.:
Die Serumproteine der wachsenden Gunn-Ratte;
Quantitative Untersuchungen mit der Agarose-
gelelektrophorese
Research in Experimental Medicine 302 1981
60. Campbell R.C.:
Statistische Methoden für Biologie und Medizin
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1971
61. Smith L.M., Molomut N., Gottfried B.:
Effect of subconvulsive audiogenic stress
in mice on turpentine induced inflammation
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103, 370-372, 1960
62. Amkraut A.A., Solomon G.F., Kraemer H.C.:
Stress, early experience and adjuvant-induced
arthritis in the rat
Psychosomatic Medicine Vol. 33 No. 3, 203-214,
1971
63. Edwards E.A., Rahe R.H., Stephens P.M., Henry J.P.:
Antibody response to bovine serum albumine
in mice; The effects of psychosocial environ-
mental change
Proceedings of the Society for Experimental
Biology and Medicine 164, 478-481, 1980
64. Riley V.:
Psychoneuroendocrine influences on immunocompe-
tence and neoplasia
Science 212, 1100-9, Jun 1981
65. Besedovsky H.O., Sorkin E.:
Immunologic-neuroendocrine circuits:
Psychological approaches
Psychoeneuroimmunology, 545-74, 1981 Academic Press

66. Selye H.:

A syndrome produced by diverse nocuous agents
Nature(London) 138 32. 1936 zitiert nach Mon-
jan (L.67)

67. Monjan A.A.:

Stress and immunological competence: Studies
in animals
Psychoneuroimmunology, 185-225, 1981 Academic
Press

68. Monjan A.A., Collector M.I.:

Stress-induced modulation of the immune response
Science 196, 307-8, 1977

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. G. Wittke für die Überlassung des Themas und für die, mir stets über alle Schwierigkeiten hinweghelfende, freundliche Unterstützung sowie für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Mein Dank gilt auch all denen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonders erwähnen möchte ich Frau D. Plaumann und Herrn Prof. Dr. A. Bayer aus dem Institut für Veterinär-Physiologie, Herrn Prof. Dr. M. Siegert, Herrn D. Jarofke, Frau E. Frommholt, Frau A. Gatzke, Frau P. Havemann und Frau K. Sojin aus der AG für klinische und experimentelle Plasmaproteinforschung, Herrn R. Meister aus der Fachrichtung Biometrie, Herrn L. Dietzel-Rühl aus dem Institut für Versuchstierkunde und Versuchstierkrankheiten sowie Herrn J. Musold für die Betreuung der Versuchstiere.

Lebenslauf

Name:	Siegfried Kress
Geburtsdatum:	9. Juli 1953
Geburtsort:	Calw
Eltern:	Werner Kress Hertha Kress, geb. Heß
Frühjahr 1960 bis Frühjahr 1964 Frühjahr 1964 bis Herbst 1970 Herbst 1970 bis Sommer 1972 19. Juni 1972 Januar 1973 bis April 1974 1. Juli 1974 Juli 1974 bis Oktober 1975 15. Oktober 1975 23. August 1976 29. August 1977 20. September 1978 18. Oktober 1979 19. Dezember 1980 28. Januar 1981 seit Februar 1981 Februar 1981 bis März 1982 März 1982 bis Oktober 1982 ab November 1982	Besuch der Volksschule Altensteig Besuch der Jugenddorf-Christophorus- Schule Altensteig Besuch des Johannes-Kepler-Gymnasiums Weil der Stadt Erlangung der allgemeinen Hochschulreife Ziviler Ersatzdienst in Tübingen Examen als Krankenpflegehelfer Tätigkeit als Krankenpflegehelfer in Tübingen, Aberdeen (U.K.) und Berlin Beginn des Studiums der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin Vorphysikum, FU Berlin Physikum, FU Berlin 1. Abschnitt der Tierärztl. Prüfung, FU Berlin 2. Abschnitt der Tierärztl. Prüfung, FU Berlin 3. Abschnitt der Tierärztl. Prüfung, FU Berlin Approbation als Tierarzt Arbeit an der vorgelegten Dissertation Teilzeitbeschäftigung als Krankenpflege- helfer am Krankenhaus Berlin-Neukölln Freier Mitarbeiter in der Tierärztlichen Ambulanz, Berlin-Neukölln niedergelassener Tierarzt in Berlin-Spandau

